

Aus der Nervenlinik mit Poliklinik  
der Universität Erlangen-Nürnberg  
(Direktor: Prof. Dr. H. H. Wieck)

# **Die Bestimmung der Uroporphyrinogen I-Synthetase im Vollblut**

**Eine Methode zur Diagnostik und  
Früherkennung der akuten  
intermittierenden Porphyrrie**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
dem Fachbereich Medizin  
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg**

**vorgelegt von  
Heinrich Kammerer  
aus Wiesau - Tirschenreuth**



Aus der Nervenlinik mit Poliklinik  
der Universität Erlangen-Nürnberg  
(Direktor: Prof. Dr. H. H. Wieck)

# **Die Bestimmung der Uroporphyrinogen I-Synthetase im Vollblut**

**Eine Methode zur Diagnostik und  
Früherkennung der akuten  
intermittierenden Porphyrie**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
dem Fachbereich Medizin  
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg**

**vorgelegt von  
Heinrich Kammerer  
aus Wiesau - Tirschenreuth**

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin der  
Universität Erlangen - Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. H.H. Wieck

Tag der mündlichen Prüfung: 24. März 1975

Herrn Professor Dr. H. H. WIECK  
fühle ich mich für die Überlas -  
sung des Themas zu dieser Arbeit  
zutiefst verpflichtet.

Ich möchte nicht versäumen, Herrn  
Professor Dr. H. VALENTIN herzlichst  
für die Erlaubnis, die notwendigen  
Untersuchungen an seinem Institut  
durchzuführen, zu danken.

Verbindlichst danke ich auch Herrn  
Dr. K. - F. DRUSCHKY für die viel-  
fachen Anregungen und die wohlwol-  
lende Unterstützung.

Ebenso sage ich Herrn chem. ing.  
K. - H. SCHALLER für die großzügige  
Hilfe bei methodischen und statistischen  
Fragen Dank.



## INHALTSVERZEICHNIS

|                                     | Seite |
|-------------------------------------|-------|
| I. EINLEITUNG                       | 1     |
| A) Einteilung der Porphyrien        | 1     |
| B) Biochemische Pathogenese der AIP | 1     |
| C) Die Klinik der AIP               | 4     |
| D) Eigene Fragestellung             | 5     |
| II. STICHPROBENAUSWAHL              | 7     |
| A) Porphyriker-Familien             | 7     |
| B) Vergleichskollektiv              | 11    |
| III. METHODIK                       | 12    |
| A) Bestimmung der URO I-S-Aktivität | 12    |
| B) Analyse von ALA                  | 16    |
| C) PBG - Bestimmung                 | 16    |
| IV. ERGEBNISSE                      | 18    |
| A) Vergleichskollektiv              | 18    |
| B) Porphyriker-Familien             | 24    |
| V. DISKUSSION                       | 46    |
| VI. ZUSAMMENFASSUNG                 | 52    |
| VII. LITERATURVERZEICHNIS           | 54    |



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548420\\_0030](https://archive.org/details/IA41548420_0030)

## I. EINLEITUNG

### A. Einteilung der Porphyrinen

Unter dem Begriff der "hepatischen" Porphyrinen versteht man eine Gruppe von teils angeborenen, teil erworbenen Porphyrinsynthesestörungen mit gesteigerter Produktion von Porphyrin und Porphyrinvorstufen in der Leber ( 5, 12, 13 ). Als Folge der verstärkten Bildung von Hämpräkursoren kommt es zur Anhäufung dieser verschiedenen Zwischen- und Nebenprodukte des Porphyrinstoffwechsels im Blut, in den Körperflüssigkeiten und in zahlreichen Geweben sowie zur gesteigerten Exkretion dieser Substanzen in Urin und Stuhl ( 5, 6, 10, 14 ).

Die akute intermittierende Porphyrrie ( AIP ), die hereditäre Koproporphyrrie und die Porphyria variegata weisen eine hereditäre Genese auf. Die Vererbung erfolgt autosomal-dominant mit unterschiedlicher Expressivität. Den hepatischen hereditären Porphyrinen liegt als biochemische Abnormität eine vermehrte Synthese von Delta-Aminolävulininsäure zugrunde, die auf einer erhöhten Aktivität der Delta-Aminolävulininsäure-Synthetase beruht ( 5, 9, 16, 25, 43 ).

Alle drei Erkrankungen lassen sich durch das klinische Bild und die Analyse der Porphyrine und ihrer Vorstufen im Urin unterscheiden. Der qualitative Nachweis von Porphobilinogen und Porphyrinen erlaubt außerdem differentialdiagnostische Vorentscheidungen.

### B. Die biochemische Pathogenese der akuten intermittierenden Porphyrrie

Das Verständnis der biochemischen Pathogenese der AIP setzt die Kenntnis des Porphyrin-Stoffwechsels und seiner normalen Regulation voraus ( Abbildung 1 ). Die Steuerung des Porphyrin-Stoffwechsels erfolgt wenigstens teilweise im Sinn einer Autoregulation. Als erstes Enzym der Porphyrin-Synthese ist die Delta-Aminolävulininsäure-Synthetase ( 5 - ALA - S ) für diesen Stoffwechselweg geschwindigkeitsbestimmend ( 28 ). Sie stellt nach

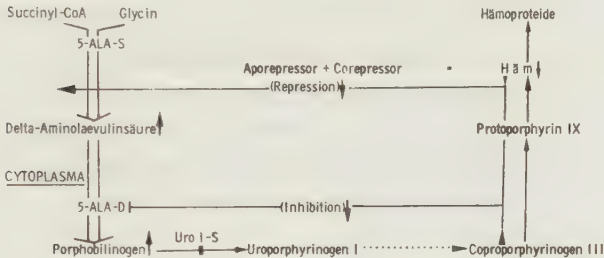
der Theorie von JACOB und MONOD ( 19 ) ein induzierbares bzw. reprimierbares System dar. Der Mechanismus der Repression wird insbesondere durch überschüssig gebildetes Häm, das Endprodukt der Porphyrin-Synthese, als Corepressor vermittelt. Der Corepressor Häm verbindet sich mit einem Aporepressor zum aktiven Repressor, der eine Synthesehemmung der 5-ALA-S auf der Stufe der Transkription bewirkt. Eine Verminderung der aktuellen Hämkonzentration führt dagegen zu einer Steigerung der Enzymmenge durch Verminderung der Repression der 5-ALA-S.

Der primäre Defekt der AIP wurde für einige Zeit in einer vermehrten Induktion der 5-ALA-S gesehen ( 43 ), bis HEILMEYER und CLOTTEN ( 15 ) eine verminderte Aktivität der Uroporphyrinogen I-Synthetase ( URO I-S ) in der Leber von Kranken mit AIP nachweisen konnten. MEYER und Mitarbeiter ( 26 ) fanden erstmals 1972 ähnliche Werte in den Erythrozyten derartiger Patienten.

Die Annahme eines primären Defektes der URO I-S als der AIP zugrundeliegende Störung erklärt, wie in Abbildung 1 dargestellt, den Anstau und die vermehrte Ausscheidung der Porphyrinvorstufen Delta-Aminolävulinsäure ( 5-ALA ) und Porphobilinogen ( PBG ) besser als die Annahme einer primär gesteigerten Induktion der 5-ALA-S ( 4 ). Diese läßt sich vielmehr im Sinne der dargestellten Autoregulation der Porphyrinsynthese auch sekundär deuten. Die aufgrund des primären Enzymdefektes der URO I-S erniedrigte Hämkonzentration ergibt eine verminderte Repression der 5-ALA-S und hat damit ein kompensatorisch vermehrtes Beschreiten des Stoffwechselweges bis zu dem genannten Enzymdefekt zur Folge.

# DIE BIOCHEMISCHE PATHOGENESE DER AKUTEN INTERMITTIERENDEN PORPHYRIE (AIP)

## MITOCHONDRIUM



—●— = primärer Enzymdefekt der AIP

⇒ = kompensatorisch vermehrt beschrittener Stoffwechselweg

⊖ = Repression

↑ = Erhöhung

↓ = Inhibition

⬇ = Verminderung

5-ALA-S = Delta-Aminolaevulinic-Synthetase

5-ALA-D = Delta-Aminolaevulinic-Dehydratase

Uro I-S = Uroporphyrinogen I - Synthetase

Abbildung 1 : Die biochemische Pathogenese der akuten intermittierenden Porphyrie ( nähere Einzelheiten siehe Text ).

In vitro ist auch eine Inhibition der Delta-Aminolävulinäure-Dehydratase ( 5-ALA-D ) durch Coproporphyrin ( 2 ) und Häm ( 16 ) nachweisbar. Eine Verminderung dieser Hemmung durch eine reduzierte Bildung von Coproporphyrin und Häm könnte eine zusätzliche Steigerung der Bildung von PBG bewirken. Eine Vermittlung dieses Effekts durch Häm ist aus Gründen der Kompartimentierung der Hämsynthese in Mitochondrium und Cytoplasma unwahrscheinlich. In neuen Veröffentlichungen ( 32 ) wird auch die quantitative Bedeutung der Repressionsverminderung der 5-ALA-S durch eine verminderte Häm-Bildung in Zweifel gezogen. Diese Autoren sehen als zusätzlichen Defekt zur Verminderung der URO I-S eine Induktion der 5-ALA-S durch verschiedene bei Patienten mit AIP vermehrt auftretende Substanzen an. Eine abschließende Beurteilung der einzelnen diskutierten Vorgänge ist bisher noch nicht möglich.

#### C. Die Klinik der akuten intermittierenden Porphyrie

Die AIP ist also außer durch eine erhöhte Aktivität der Delta-Aminolävulinäure-Synthetase durch eine verminderte Enzymaktivität der Uroporphyrinogen I-Synthetase gekennzeichnet. Dieser Enzymdefekt ist genetisch bedingt und wird als primäre Störung angesehen.

Da diese enzymatische Störung allein jedoch nicht ausreicht, um das klinische Erscheinungsbild dieses genetischen Defektes zu bestimmen, scheint eine weitere biochemische Abnormalität, nämlich die Verringerung der Aktivität der Steroid-Delta<sup>4</sup>-5 Alpha-Reduktase, für die Expressivität der Erkrankung und die postpubertäre Manifestation von Bedeutung. Auch andere, bisher nicht identifizierte Faktoren werden diskutiert ( 20, 21, 32 ).

Die Klinik der akuten intermittierenden Porphyrie ist vielgestaltig und berührt mehrere Fachdisziplinen. Frauen sind häufiger betroffen als Männer. Das Manifestationsalter liegt zwischen dem 20. und dem 40. Lebensjahr. Charakteristisch ist das schubartige Auftreten der Symptomatik. Die häufig im Vordergrund stehenden kolikartigen Leibschmerzen geben zu der Fehl-

diagnose "Ileus" Anlaß, wobei etwa 50 % der Kranken vor der richtigen Diagnosesstellung ein- oder mehrmals laparotomiert werden ( 41 ). Oft sind deletäre Verschlechterungen die Folgen dieses Vorgehens. Außerdem kommt es zu kardiovaskulären Störungen. Häufig finden sich auch neuropsychiatrische Krankheitszeichen mit Polyneuropathien, zerebralen Krampfanfällen und Funktionspsychosen ( 47, 48 ). Ein Zusammenhang zwischen der Symptomatologie und der erhöhten Konzentration der Hämpräkursoren konnte bisher nicht nachgewiesen werden ( 49 ).

Akute Symptome werden meist durch die unvorsichtige Gabe verschiedener Arzneimittel - so beispielsweise durch die zur Narkose und häufig zur Schmerzbekämpfung verwendeten Barbiturate, aber auch durch Griseofulvin, Sulfonamide oder Östrogene - ausgelöst. Biochemisch sind die Schübe durch eine vermehrte Anreicherung und Ausscheidung von Porphyrinen und Porphyrinvorstufen charakterisiert ( 39 ).

#### D. Eigene Fragestellung

Da jeder akute Schub einer Porphyrie für den Patienten eine vitale Gefährdung darstellt und eine kausale Therapie noch nicht möglich ist, müssen die Erfassung latenter Träger dieser autosomal-dominant vererbten Stoffwechselstörung durch Familienuntersuchungen und eine entsprechende Führung im Vordergrund der ärztlichen Bemühungen stehen ( 10, 41 ).

Die bisher durchgeführten Untersuchungen an Porphyriker-Familien mit quantitativen Bestimmungen von Delta-Aminolävulinsäure ( ALA ) und Porphobilinogen ( PBG ) im Urin zur Aufdeckung asymptomatischer Träger der Erkrankung haben sich häufig als unzureichend erwiesen ( 9, 10, 22, 40, 42, 45, 46, 50 ).

Ein negatives Ergebnis der Urinanalyse läßt außerdem das Vorliegen eines genetischen Defektes nicht ausschließen.

Qualitative Verfahren, wie die WATSON-SCHWARTZ-Probe, können zu falsch-negativen Ergebnissen führen und lassen sich allenfalls als Suchtests verwenden. Belastungsversuche durch Verabreichung hoher Dosen von Glyzin ( 29 )

zur Erfassung latenter Träger des genetischen Defektes haben sich nicht bewährt ( 10 ). Stoffwechseluntersuchungen mit radioaktiv-markierten Substanzen wie 5 - C<sub>14</sub> - ALA zur Messung des Umsatzes der Porphyrin-vorstufen sind sehr aufwendig ( 8 ).

In Porphyriker-Familien liegt sowohl bei den Patienten mit AIP wie auch bei den latenten Merkmalsträgern als primärer genetischer Defekt eine verminderte Aktivität der URO I-S in der Leber und in den Erythrozyten vor. Die Messung der Aktivität dieses Enzyms soll deshalb ein diagnostisches Kriterium zur Früherkennung der Merkmalsträger dieser Erkrankung von wesentlicher präventiv-medizinischer Wertigkeit darstellen ( 10, 11, 24, 25, 26, 27, 30, 31, 32, 34, 38 ).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung bestand darin, zunächst eine eigene, einfache fluorimetrische Methode zur Bestimmung der URO I-S-Aktivität im Vollblut zu erarbeiten. Mit diesem Analysenverfahren sollten zur Festsetzung von Grenz- und Normalwerten sowie der intra- und interindividuellen Schwankungsbreite Bestimmungen der Enzymaktivität an einem Vergleichskollektiv durchgeführt werden. Außerdem war die Erfassung der latenten Träger dieses Enzymdefektes durch URO I-S-Aktivitätsbestimmungen bei 100 Familienmitgliedern aus 4 Porphyriker-Familien vorgesehen.

## II. STICHPROBENAUSWAHL

### A. Porphyriker - Familien

Wir untersuchten 4 Familien von Patienten, bei denen sowohl klinisch wie auch biochemisch das Vorliegen einer AIP gesichert war. Drei der Patienten hatten sich wegen einer Porphyrie-Polyneuropathie in stationärer Behandlung in der Universitäts-Nervenlinik Erlangen ( Direktor: Professor Dr. H. H. Wieck ) befunden, der vierte Patient war dort auf Veranlassung des Institutes für Arbeits- und Sozialmedizin und Poliklinik für Berufskrankheiten der Universität Erlangen - Nürnberg ( Direktor: Prof. Dr. H. Valentin ) untersucht worden.

#### 1. Familie I

Herr J. B. , ein damals 54-jähriger Patient, wurde 1970 in der Universitäts-Nervenlinik auf Veranlassung des Institutes für Arbeits- und Sozialmedizin und Poliklinik für Berufskrankheiten ambulant untersucht. In der Familie waren keine Auffälligkeiten bekannt. Nach Angaben des Herrn B. sei seit 1957 intermittierend eine Rotfärbung des Urins aufgefallen. Koliken oder abdominelle Beschwerden seien nie aufgetreten. Eine unabhängig davon bestehende Gangunsicherheit aufgrund einer Paraspastik wurde als Ausdruck einer Encephalomyelitis disseminata angesehen. Für eine Bleivergiftung ergab sich kein Hinweis. Die jetzt durchgeführten Enzymbestimmungen bestätigten die bereits 1967 gestellte Diagnose einer AIP.

Zusätzlich untersuchten wir die Tochter und die drei Enkelkinder des Patienten. Der Rest der Familie ist in den USA anständig und war deshalb für uns nicht erreichbar.

## 2. Familie 2

Herr J. S., ein 54 Jahre alter Waldarbeiter, verspürte 1950, im Anschluß an eine Appendektomie, plötzlich kolikartige Leibschmerzen mit Brechreiz und Obstipation. Nach 10 Tagen spontan Rückbildung der Symptomatik. Ähnliche Krankheitserscheinungen 1962 und 1963 mit kurzzeitiger stationärer Behandlung in einem auswärtigen Krankenhaus. 1965 wiederum abdominelle Beschwerden mit Druckschmerz im Ober- und Unterbauch und fehlende Abwehrspannung. Während der Vorbereitung zur Laparotomie unter der Medikation mit Analgetika Auftreten einer Tetraparese. Zuvor wochenlang burgunderrote Färbung des Urins. Die Einweisung in die Universitäts-Nervenlinik erfolgte zur diagnostischen Abklärung.

Bei Klinikaufnahme am 6. 5. 1965 polyneuritisches Syndrom mit mittel- bis hochgradiger, armbetonter Tetraparese und Hirnnervenbeteiligung. Keine Ateminsuffizienz. WATSON-SCHWARTZ-Test positiv. Unter Glukosezufuhr, Elektrotherapie und krankengymnastischer Übungsbehandlung weitgehende Rückbildung der Paresen. Entlassung am 7. 8. 1965. Seit dieser Zeit unter Vermeidung schädlicher Einflüsse kein erneuter Krankheitsschub.

Anamnestisch waren im Familienkreise sonst keine Hinweise für das Vorliegen einer AIP eruierbar. Die bereits 1974 durchgeführte Familienuntersuchung mit Bestimmung der Hämpräkursoren im Urin ( 9, 10 ) hatte bei dem ältesten Sohn und bei der Schwester des Herrn S. das Vorliegen einer Porphyrie mit den entsprechenden biochemischen Ausscheidungsmustern, doch ohne klinische Symptomatik, ergeben. In die jetzige Familienuntersuchung wurden 10 Angehörige im Alter von 7 bis 54 Jahren eingeschlossen. Es handelte sich um 6 weibliche und 4 männliche Familienmitglieder.

### 3. Familie 3

Bei Frl. H. F., einer 1943 geborenen Abiturientin, wurde 1965 eine Appendektomie durchgeführt. Am 31. 5. 1972 stationäre Aufnahme in einer Medizinischen Abteilung eines auswärtigen Krankenhauses wegen krampfartiger Schmerzen im Abdominalbereich. Bauchdecken leicht gespannt, abdomineller Druckschmerz. Röntgenologisch zunächst kein Anhalt für das Vorliegen eines Ileus. Wegen anhaltender Leibschmerzen, Erbrechen und Pulsbeschleunigung Verlegung in die Chirurgische Abteilung. Laparatomie am 3. 6. 1972 wegen "Adhäsionsileus der terminalen Ileumschlinge nach länger zurückliegender Appendektomie". Postoperativ stärkere Rotfärbung des Urins. Nach weiteren 5 Tagen Auftreten einer akut verlaufenden Polyneuropathie. Bei Aufnahme auf unserer Intensiv-Therapiestation am 20. 6. 1972 hochgradige Tetraparese mit Hirnnervenbeteiligung. WATSON-SCHWARTZ-Test positiv. Im 24-Stunden-Urin deutliche Erhöhung der Delta-Aminolävulinäure mit 39,96 mg sowie des Porphobilinogens mit 42 mg ( Normalwerte siehe Tabelle 1 ). Zunahme der Paresen, Sinustachykardie. Wegen respiratorischer Azidose nasale Intubation mit einem Thermoplast-Tubus. Über acht Tage assistierende Beatmung. Rückbildung der Lähmungen unter Therapie mit hochprozentiger Glukose über den Vena-Cava-Katheter. Thromboseprophylaxe. Extubation am 10. 7. 1972. Am folgenden Tag Exitus unter den eindeutigen Zeichen einer Lungenembolie.

Bei Untersuchungen an 54 Mitgliedern der Sippe von Frl. F. mit quantitativer Bestimmung von ALA und PBG sowie den Porphyrinen im 24-Stunden-Urin ( 9, 10 ) stellte sich heraus, daß bei einer Kusine der verstorbenen Patientin bereits 1966 die Diagnose einer AIP gestellt worden war. Auf die Möglichkeit einer hereditären Belastung war nicht hingewiesen worden. Bei dieser Studie waren keine latenten Träger des genetischen Defektes auffindig gemacht worden.

Die jetzige Untersuchung bezog sich auf 50 Familienmitglieder der aus 3 Generationen, nämlich 26 weibliche und 24 männliche Familienangehörige. Das Durchschnittsalter betrug 27,5 Jahre. Der älteste Patient war 79 Jahre, die jüngste Patientin ein zweijähriges Mädchen.

#### 4. Familie 4

Herr H. B., ein 24 Jahre alter Patient, wurde 1961 wegen eines Darmverschlusses konservativ in einem auswärtigen Krankenhaus behandelt. Weihnachten 1962 abermaliges Auftreten kolikartiger Schmerzen. Im November 1963 spontan wiederum heftige Bauchschmerzen. Bei Aufnahme im Krankenhaus starker Meteorismus, nur vereinzelt Darmgeräusche. Laparotomie am 6. 11. 1963 unter der Diagnose "Dünndambride". Am 18. 11. 1963 beginnende Polyneuropathie, Ausbildung einer Tetraparese. Wegen zunehmender Beteiligung der Atemmuskulatur und respiratorischer Insuffizienz Aufnahme in der Universitäts-Nervenklinik Erlangen. Zu diesem Zeitpunkt stark erhöhte Werte von PBG und ALA im Urin. Exitus am 8. 12. 1963 an einer zentralen Atemlähmung.

Die Erhebung der Familienanamnese ergab, daß eine Schwester des Patienten im Alter von 27 Jahren nach einer "Darmverschlingung" verstorben sei. Auch ein Onkel sei vor seinem Tod im Alter von 65 Jahren wegen einer "Darmverschlingung" laparotomiert worden.

Wir führten bei 19 weiblichen und 16 männlichen Mitgliedern dieser Familie Enzymbestimmungen durch. Das Alter der Patienten lag zwischen 3 und 69 Jahren. Bei 17 Familienangehörigen war bereits 1974 ( 9, 10 ) eine Urinuntersuchung zur Bestimmung von Hämpräkursoren durchgeführt worden, ohne daß sich sichere Hinweise für das Vorliegen latenter Träger des genetischen Defektes ergeben hätten.

## B. Vergleichskollektiv

Zur Erarbeitung eines Normbereiches für die URO I - S-Aktivität wurden Bestimmung an 60 weiblichen und 68 männlichen Personen sowie 31 Kindern beiderlei Geschlechts vorgenommen. Zu den Kindern wurden Kontrollpersonen bis zur Vollendung des 12. Lebensjahres gezählt. Das Vergleichskollektiv setzte sich aus Patienten der Universitäts-Nervenlinik Erlangen und dem Krankengut einer Allgemeinpraxis sowie aus Schülerinnen einer Schwesternschule in Erlangen und Angehörigen des Transportbataillons 270 der Bundeswehr aus Nürnberg zusammen.

Weder in den klinischen Befunden noch in den anamnestischen Angaben erhielten wir bei diesem Personenkreis Anhaltspunkte für das Vorliegen einer AIP.

### III. METHODIK

#### A. Bestimmung der URO I - S - Aktivität

##### 1. Prinzip

Das Prinzip der in unseren Laboratorien erarbeiteten Methode zur Bestimmung der URO I - S in den Erythrozyten basiert darauf, daß das nachzuweisende Enzym mit einer maximalen Substratkonzentration von PBG inkubiert wird ( Abbildung 2 ). Das in einer bestimmten Zeiteinheit gebildete Uroporphyrin wird fluorimetrisch gegen einen Leerwert gemessen. Die entstandene Menge Uroporphyrin stellt ein Maß für die Aktivität der URO I-S dar. Als Einheit wird von uns  $\mu\text{mol Uroporphyrin/min/Liter Erythrozyten ( U/L )}$  verwendet. Das benutzte Meßverfahren entspricht in wesentlichen Teilen der von uns verwendeten Mikromethode zur Bestimmung der freien Erythrozytenporphyrine ( 34, 35 ).

##### 2. Probengewinnung

Für die analytische Bestimmung der Enzymaktivität kann sowohl Venenblut als auch Kapillarblut eingesetzt werden. Als Antikoagulanzen verwendeten wir Heparin. Für jede Untersuchung ( 3-fach-Bestimmung und ein Leerwert ) werden mit geeichten Mikrokapillaren  $4 \times 20 \mu\text{l}$  Vollblut entnommen. Die Blutproben sind bei  $4^{\circ}\text{C}$  über längere Zeit lagerbar.

##### 3. Reagenzien

1,5 N Salzsäure

Essigsäure-Äthylester-Eisessig-Gemisch ( 4 : 1 )

50 mM Tris-HCl-Puffer, pH 8

0,55 mM Porphobilinogen ( PBG )-Lösung in

50 mM Tris - HCl-Puffer.

METHODE ZUR BESTIMMUNG DER UROPORPHYRINOGEN I -  
SYNTHETASE - AKTIVITÄT IN DEN ERYTHROZYTEN (Uro I-S)  
(SCHIELE 1974)

| <u>Probe</u> (3fach-Bestimmung)                                                                                                           | <u>Leerwert</u>                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 1 ml 0,15 mM Porphobilinogen<br>in 50 mM Tris-HCl pH 8                                                                                    | 1 ml 0,15 mM Porphobilinogen<br>in 50 mM Tris-HCl pH 8               |
| für 5 Min. bei 37°C (Wasserbad)<br>inkubieren                                                                                             |                                                                      |
| + 0,02 ml Vollblut                                                                                                                        | + 0,02 ml Vollblut<br>+ 3 ml Essigsäureäthylester-<br>Eisessig (4:1) |
| 10 Sec. mischen und für 60 Min.<br>bei 37°C (Wasserbad) im Dunkeln inkubieren                                                             |                                                                      |
| + 3 ml Essigsäureäthylester-<br>Eisessig (4:1)                                                                                            |                                                                      |
| + 3 ml 1,5 n HCl                                                                                                                          | + 3 ml 1,5 n HCl                                                     |
| 10 Sec. mischen und für 30 Sec.<br>mit 2000g zentrifugieren                                                                               |                                                                      |
| die untere (wässrige) Phase abziehen<br>und bei 405 nm Excitation und<br>592 nm Emission<br>Probe gegen Leerwert<br>fluorimetrisch messen |                                                                      |
| Auswertung nach Eichkurve mit<br>Uroporphyrinstandards unter<br>Berücksichtigung des Hämatokrits<br>als Uroporphyrin/min./l Erythrozyten  |                                                                      |

Abbildung 2 : Schematische Darstellung der fluorimetrischen Methode zur Bestimmung der Uroporphyrinogen I - Synthetase - Aktivität in den Erythrozyten ( 34 ).

#### 4. Geräte

Turner-Fluorimeter ( Modell 111 )

Thermostatisierbares Wasserbad,

Vortex-Mischer, 20  $\mu$ l Mikrokapillaren, geeicht.

#### 5. Arbeitsvorschrift

4 Zentrifugenröhrchen werden mit jeweils 1 ml der PBG-Puffer-Lösung versetzt und 5 Minuten bei 37°C im Wasserbad temperiert. In jedes dieser Röhrchen wird eine Mikrokapillare mit dem zu untersuchenden Blut ausgeblasen und kurz vermischt. Das HämolySAT wird genau 60 Minuten bei 37° im verdunkelten Wasserbad inkubiert. Von größter Bedeutung ist die präzise Einhaltung der Wassertemperatur. Das Regelspiel des Thermostaten sollte nicht größer als 37°C  $\pm$  0,5°C sein. Als Leerwert wird ein HämolySAT benutzt, das vor Beginn der Inkubation mit 3 ml des Essigsäure-Äthylester-Eisessig-Gemisches versetzt wurde. Die weitere Aufarbeitung des Leerwertes erfolgt analog den 3 anderen Proben. Am Ende der Inkubation versetzt man die 3 Proben mit jeweils 3 ml des Essigsäure-Äthylester-Eisessig-Gemisches und mischt kurz durch. Jetzt gibt man zu den 4 Zentrifugenröhrchen jeweils 3 ml der 1,5 N Salzsäure. Mit einem Vortex-Mischer werden die Versuchsansätze kurz durchgeschüttelt und anschließend 30 Sekunden bei maximaler Geschwindigkeit zentrifugiert. Zur fluorimetrischen Messung wird die untere klare salzsaure Phase eingesetzt. Man saugt sie mit einer Pipette ab und überführt den Extrakt in die Fluorimeterküvette. Das Maximum der Anregung liegt bei 405 nm, das der emittierten Fluoreszenzstrahlung bei 610 nm.

Aus der Differenz der Fluoreszenzeinheiten zwischen der Probe und dem Leerwert lassen sich durch Vergleich mit Uroporphyrin-Standardlösungen absolute Werte über die Enzymaktivität angeben. Die von uns verwendete Eichkurve ist in Abbildung 3 dargestellt.

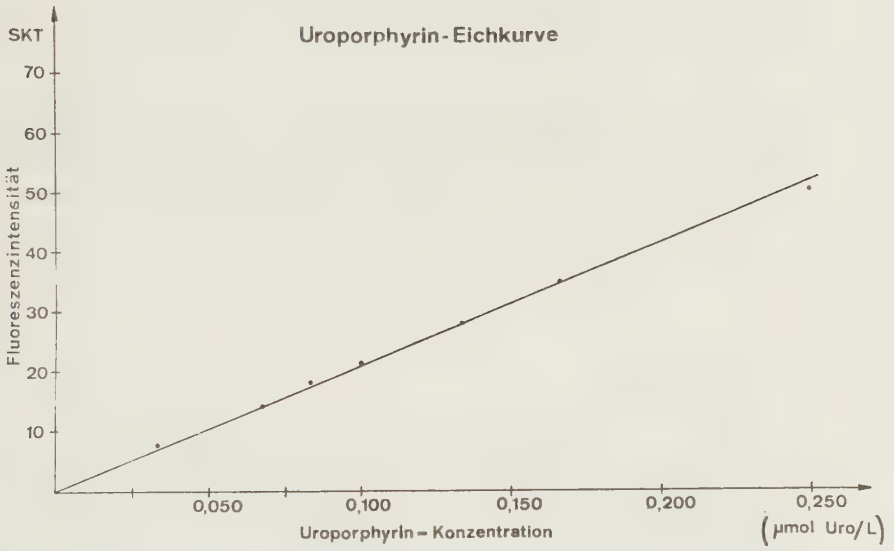


Abbildung 3 : Eichkurve zur Bestimmung der Uroporphyrinogen I-Synthetase-Aktivität

Zur Berechnung der Enzymaktivität ist der Hämatokrit der Blutprobe notwendig. Er wurde von uns mit Hilfe einer Hämatokrit-Zentrifuge ermittelt. Die Aktivität der URO I-S errechnet sich nach folgender Formel:  
Mikromol URO/min/L Erythrozyten = U/L =

aus der Eichkurve gelesener Wert x 100 x 250

---

Hkt ( % )

Bei Patienten mit niedrigen URO I-S-Aktivitäten bestimmten wir zusätzlich PBG und ALS im 24-Stunden-Urin. In Einzelfällen ( z. B. bei Kleinkindern ) war es uns nicht möglich, einen Tagesurin zu bekommen. Die Analyse erfolgte dann aus Urinproben.

#### B. Analyse von ALA

Die Delta-Aminolävulinsäure im Harn wurde mit der von DAVIS und ANDELMAN ( 3 ) angegebenen Methode ermittelt. Dieses Verfahren stellt eine vereinfachende Modifikation der von MAUZERALL und GRANICK ( 23 ) beschriebenen aufwendigeren Untersuchungsanordnung dar. Der Analysengang wurde mit "Einmalsets" von gebrauchsfertigen Austauschersäulen und Reagenzienlösungen durchgeführt. Die Endpunktbestimmung erfolgte spektralfotometrisch bei 553 nm gegen Verdünnungen einer ALA-Stammlösung.

#### C. PBG - Bestimmung

Das mit Hilfe der Ionenaustausch-Chromatographie aus dem Harn absorbierte Porphobilinogen wurde nach Elution spektralfotometrisch gemessen. Nähere Einzelheiten der Methode sind der Arbeit von DOSS und SCHMIDT ( 6 ) zu entnehmen.

Die oberen Normgrenzen für diese beiden Hämvorläufer im Urin sind aus der Tabelle 1 ersichtlich:

Tabelle 1: Obere Normgrenze für ALA und PBG im Urin

|                                 | obere Normgrenze |
|---------------------------------|------------------|
| Delta-Aminolävulinsäure ( ALA ) | 6 mg/die         |
| Porphobilinogen ( PBG )         | 2 mg/die         |

#### IV. ERGEBNISSE

##### A. Vergleichskollektiv

Zur Erstellung eines Normbereiches für die URO I-S-Aktivität untersuchten wir 60 gesunde Frauen und 68 gesunde Männer.

Die Frauen wiesen ein mittleres Alter von 30 Jahren auf und lagen im Bereich von 13 bis 75 Jahren. Das Männerkollektiv zeigte mit einem mittleren Alter von 30 Jahren eine gleiche Altersverteilung mit Extremwerten zwischen 13 und 75 Jahren. Die Ergebnisse der URO I-S-Aktivitätsmessung zeigen eine Normalverteilung ( Abbildung 4 ). Die Enzymaktivitäten im Vollblut schwanken zwischen 0,46 und 1,21 U/L. Die mittlere Enzymaktivität liegt bei  $0,79 \pm 0,14$  U/L. Daraus resultiert bei Zugrundelegung der zweifachen Standardabweichung ein Normalbereich von  $0,51 - 1,07$  U/L.

Betrachtet man die Ergebnisse getrennt nach Männern und Frauen, so zeigt sich bei einem statistischen Vergleich mit einem  $t = 0,416$  kein signifikanter Unterschied. Die mittlere Enzymaktivität der Frauen liegt bei  $0,8 \pm 0,16$  U/L, die der Männer bei  $0,79 \pm 0,15$  U/L.

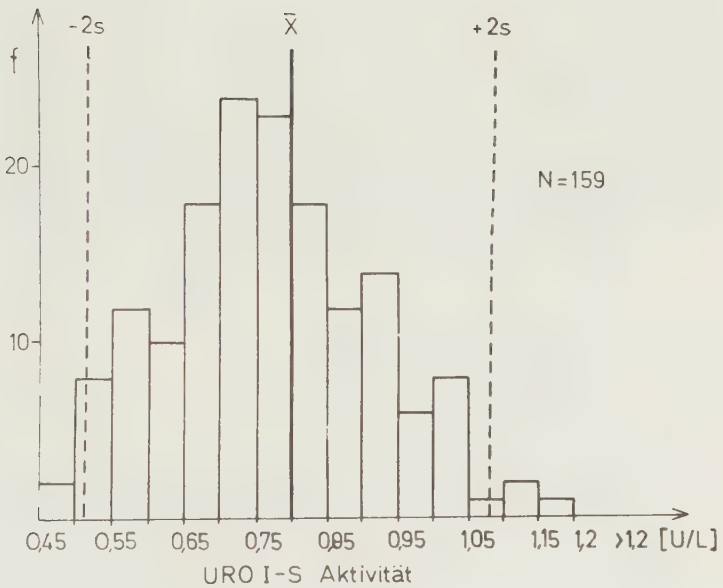


Abbildung 4 : Häufigkeitsverteilung der Uroporphyrinogen I - S - Aktivität bei einem Vergleichskollektiv ( N = 159 ). Die mittlere Enzymaktivität beträgt  $0,79 \pm 0,14$  U/L. Der Normbereich liegt zwischen 0,51 und 1,07 U/L ( entspricht der zweifachen Standardabweichung ).

Tabelle 2 : URO I - S - Normwerte

|        | N   | $\bar{x}$ ( U/L ) | S ( U/L ) |
|--------|-----|-------------------|-----------|
| Gesamt | 159 | 0,795             | 0,144     |
| Männer | 68  | 0,79              | 0,147     |
| Frauen | 60  | 0,80              | 0,157     |
| Kinder | 31  | 0,79              | 0,12      |

N = Anzahl der untersuchter Personen

$\bar{x}$  = Mittelwert

S = Streubreite

Zusätzlich wurden von uns bei 31 Kindern beiderlei Geschlechts Bestimmungen der URO I-S-Aktivität durchgeführt. Das mittlere Alter betrug 8 Jahre, die Extremwerte lagen zwischen 2 und 12 Jahren. Aus den einzelnen Ergebnissen errechnete sich eine mittlere Enzymaktivität von  $0,79 \pm 0,12$  U/L ( siehe Tabelle 2 ). Damit unterscheidet sich dieses Kollektiv statistisch nicht von dem der Erwachsenen.

Korrelationsanalytisch prüften wir außerdem den etwaigen Einfluß des Lebensalters auf die Höhe der Enzymaktivität. Der errechnete Korrelationskoeffizient von  $-0,0612$  zeigt, daß kein Zusammenhang zwischen der Aktivität der URO I-S und dem Alter besteht.

Die bei der Prüfung der intraindividuellen Schwankungsbreite der URO I-S-Aktivität erzielten Meßergebnisse sind aus der Tabelle 3 ersichtlich. Wir führten bei jeweils 5 Probanden täglich eine Bestimmung an 5 aufeinanderfol-

genden Tagen zur etwa gleichen Uhrzeit durch. Hierbei ergab sich ein mittlerer Variationskoeffizient von 5,5%. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5 graphisch aufgetragen.

| Proband | 1. Tag |            | 2. Tag |            | 3. Tag |            | 4. Tag |            | 5. Tag |            | $\bar{x} \pm s$<br>der Uro I-S<br>Aktiv., $\mu\text{mol}$<br>POG/min/L Ery |       | VK<br>(%) |
|---------|--------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|------------|----------------------------------------------------------------------------|-------|-----------|
|         | HKT%   | Uro<br>I-S | HKT%   | Uro<br>I-S | HKT%   | Uro<br>I-S | HKT%   | Uro<br>I-S | HKT%   | Uro<br>I-S |                                                                            |       |           |
| 1 m.    | 44,5   | 0,90       | 43,5   | 0,99       | 43     | 0,91       | 45     | 0,91       | 43     | 0,94       | 0,93                                                                       | 0,037 | 4         |
| 2 m.    | 50,5   | 0,73       | 48     | 0,79       | 45     | 0,83       | 49     | 0,82       | 48     | 0,81       | 0,80                                                                       | 0,040 | 5         |
| 3 m.    | 47     | 0,78       | 49     | 0,87       | 47,5   | 0,93       | 46     | 0,87       | 45     | 0,88       | 0,87                                                                       | 0,054 | 6         |
| 4 m.    | 51,5   | 0,63       | 48     | 0,66       | 47     | 0,66       | 48,5   | 0,72       | 47,5   | 0,71       | 0,69                                                                       | 0,032 | 5,6       |
| 5 m.    | 47     | 0,61       | 47,5   | 0,66       | 45     | 0,72       | 45     | 0,70       | 44     | 0,63       | 0,66                                                                       | 0,046 | 7         |

Tabelle 3 : Intraindividuelle Schwankungen der URO I-S-Aktivität im Vollblut  
( VK = Variationskoeffizient )

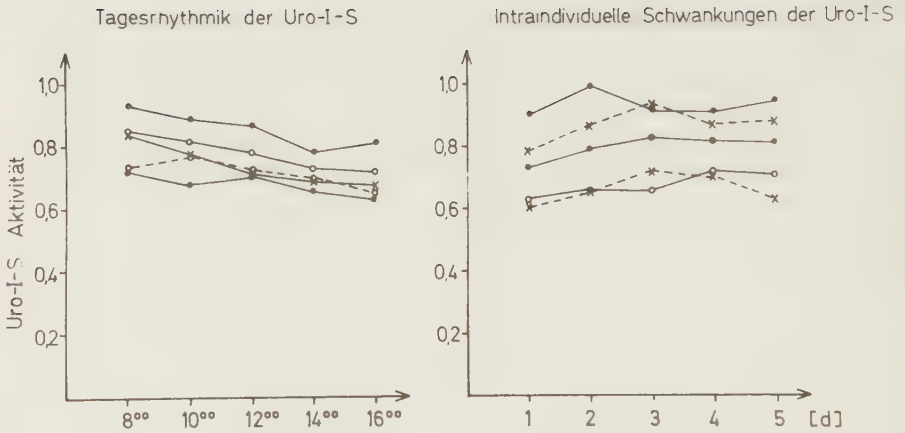


Abbildung 5 : Intraindividuelle Schwankungen der URO I-S.

Auf der Abszisse sind die Tage aufgetragen, die Werte auf der Ordinate stellen die URO I-S-Aktivität in U/L dar.

Abbildung 6 : Tagesrhythmik der URO I-S. Die Angaben auf der Abszisse entsprechen der Tageszeit der Blutentnahme ( Einzelheiten siehe Text ).

Daneben erschien uns die Erfassung der Tagesrhythmik der URO I-S wichtig. Hierzu wurden die Enzymaktivitäten wiederum bei 5 Probanden durch jeweils 5 Einzelbestimmungen in 2-stündigem Abstand an einem Tag untersucht. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 4 niedergelegt.

| Proband | Uhrzeit         |            |                  |            |                  |            |                  |            |                  |            | $\bar{x} \pm S$                          |       | VK<br>(%) |
|---------|-----------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------------------------------|-------|-----------|
|         | 8 <sup>00</sup> |            | 10 <sup>00</sup> |            | 12 <sup>00</sup> |            | 14 <sup>00</sup> |            | 16 <sup>00</sup> |            |                                          |       |           |
|         | Hkt%            | Uro<br>I-S | Hkt%             | Uro<br>I-S | Hkt%             | Uro<br>I-S | Hkt%             | Uro<br>I-S | Hkt%             | Uro<br>I-S | Uro I-S-Aktivität<br>/umol/PG6/min/1 Ery |       |           |
| 1 m.    | 48,5            | 0,84       | 46,5             | 0,78       | 47               | 0,71       | 46,5             | 0,69       | 44               | 0,68       | 0,74                                     | 0,068 | 9,2       |
| 2 m.    | 50              | 0,72       | 50               | 0,68       | 49               | 0,71       | 47               | 0,66       | 46,5             | 0,63       | 0,68                                     | 0,036 | 5,4       |
| 3 m.    | 43              | 0,85       | 43               | 0,82       | 45               | 0,78       | 43               | 0,73       | 43               | 0,72       | 0,78                                     | 0,056 | 7,2       |
| 4 m.    | 46              | 0,73       | 46               | 0,78       | 43               | 0,71       | 43,5             | 0,70       | 44               | 0,65       | 0,71                                     | 0,047 | 6,6       |
| 5 m.    | 42              | 0,73       | 44               | 0,89       | 43               | 0,87       | 43               | 0,70       | 42               | 0,81       | 0,86                                     | 0,071 | 7,1       |

Tabelle 4 : Tagesrhythmik der URO I-S-Aktivität im Vollblut

Der mittlere Variationskoeffizient betrug 7,1 %. Vergleicht man diese Variationskoeffizienten mit dem methodischen Fehler, so liegt der nur geringfügig darüber. Die Präzision unserer fluorimetrischen URO I-S-Bestimmung in der Serie, geprüft durch eine 9-fach-Bestimmung der gleichen Blutprobe, ergab einen Variationskoeffizienten von 3,7 %.

## B. Porphyriker-Familien

Mit der von uns erarbeiteten fluorimetrischen Methodik bestimmten wir die URO I-S-Aktivität bei 100 Mitgliedern von 4 Porphyriker-Familien. Die Patienten-Gruppe setzte sich aus 54 weiblichen und 46 männlichen Angehörigen zusammen. Die Größe der Familien schwankte zwischen 5 ( Familie 1 ) und 50 ( Familie 3 ) Mitgliedern. Das Durchschnittsalter aller untersuchten Personen betrug 25 Jahre; das jüngste Familienmitglied war 2, das älteste 79 Jahre alt ( Tabelle 5 ).

Tabelle 5 : Aufgliederung der Porphyriker-Familien nach Anzahl der untersuchten Personen, Alter und Geschlecht.

| Familien                         | 1                | 2                | 3                | 4                |
|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Anzahl der untersuchten Personen | 5                | 10               | 50               | 35               |
| Alter                            | 21,2<br>(6 - 53) | 24,8<br>(7 - 54) | 27,5<br>(2 - 79) | 26,7<br>(4 - 69) |
| Weiblich                         | 3                | 6                | 26               | 19               |
| Männlich                         | 2                | 4                | 24               | 16               |

Auf den Tabellen 6, 7, 8 und 9 sind alle bei den Patienten gemessenen Werte angegeben. Die Aktivitätsbestimmung der URO I-S in den Erythrozyten wurde bei allen von uns erreichbaren Familienmitgliedern durchgeführt, während die ALA- und PBG-Analysen im Urin insbesondere bei niedrigen URO I-S-Werten erfolgten. Da in Einzelfällen kein 24-Stunden-Urin zu erhalten war, untersuchten wir deshalb Urinproben. Die Ergebnisse sind dann in mg/L bzw.  $\mu\text{g/L}$  ausgedrückt.

Tabelle 6 : Quantitative Bestimmungen von URO I-S in den Erythrozyten sowie von ALA und PBG im Urin bei Familie 1 ( H.-J. B. ). Die Meßergebnisse aus Urinproben wurden mit L gekennzeichnet.

| Nr. | Name   | Geb. Datum | Hkt. | ALA<br>(mg/die) | PBG<br>( $\mu$ g/die) | URO I-S | G | + |
|-----|--------|------------|------|-----------------|-----------------------|---------|---|---|
| 1   | B.     | 14.01.21   | 40,5 | 0,85/L          | 8624/L                | 0,45    | m | + |
| 2   | B.     |            |      |                 |                       |         |   | + |
| 3   | B.H-J. |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 4   | B.H.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 5   | B.G.   | 15.08.45   | 42   |                 |                       | 1,13    | w |   |
| 6   | B.E.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 7   | B.D.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 8   | B.G.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 9   | B.F.   | 21.10.63   | 38   |                 |                       | 0,72    | m |   |
| 10  | B.S.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 11  | B.J.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 12  | B.J.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
| 13  | B.S.   |            |      |                 |                       |         |   |   |
|     |        | 23.01.67   | 37   |                 |                       | 0,98    | w |   |
|     |        | 19.12.68   | 37   |                 |                       | 0,79    | w |   |

Hkt = Hämatokrit

G = Geschlecht

+

verstorben

Tabelle 7 : Quantitative Bestimmungen von URO I-S in den Erythrozyten sowie von ALA und PBG im Urin bei Familie 2 ( J. S. )

| Nr. | Name  | Geb.Datum | Hkt. | ALA<br>(mg/die) | PBG<br>( $\mu$ g/die) | URO I-S | G | + |
|-----|-------|-----------|------|-----------------|-----------------------|---------|---|---|
| 1   | S.M.  |           |      |                 |                       |         | w | + |
| 2   | M.B.  |           |      |                 |                       |         | w |   |
| 3   | S.A.  |           |      |                 |                       |         | m | + |
| 4   | S.J.  | 6. 04.20  | 41   | 12,5/L          | 52976/L               | 0,40    | m |   |
| 5   | S.B.  | 13. 8.23  | 43,5 | 3,95/L          | 12144/L               | 0,47    | w |   |
| 6   | R.Th. | 21. 9.30  |      | 2,0/L           | 3340/L                | 0,44    | w |   |
| 7   | H.M.  | 4.08. 13  |      |                 |                       |         | w |   |
| 8   | S.A.  | 1. 04.51  | 50   | 12,1            | 29156                 | 0,50    | m |   |
| 9   | S.G.  | 28. 9.56  |      |                 |                       |         | m |   |
| 10  | S.G.  | 22.10.59  | 40   | 1,56            | 1370                  | 0,79    | m |   |
| 11  | S.R.  | 18.10.56  | 41   | 2,37/L          | 4464/L                | 0,36    | w |   |
| 12  | S.R.  | 11.04.60  | 44   | 1,47/L          | 1420                  | 0,68    | m |   |
| 13  | R.Br. | 14.02.63  |      | 2,5/L           | 1760/L                | 0,62    | w |   |
| 14  | R.Ba. | 4.12.63   |      |                 |                       | 0,39    | w |   |
| 15  | R.A.  | 4. 6.67   |      | 1,0/L           | 2020/L                | 0,34    | w |   |

Tabelle 8 : Quantitative Bestimmungen von URO I-S in den Erythrozyten sowie von ALA und PBG im 24-Stunden-Urin bei Familie 3 ( F. H. )

| Nr. | Name | Geb.Datum  | Hkt. | ALA<br>(mg/die) | PBG<br>( $\mu$ g/die) | URO I-S | G | + |
|-----|------|------------|------|-----------------|-----------------------|---------|---|---|
| 1   | F.J. | 24.06.1865 |      |                 |                       |         | m | + |
| 2   | F.M. | 20.12.1868 |      |                 |                       |         | w | + |
| 3   | S.M. |            |      |                 |                       |         | w | + |
| 4   | F.H. | 9.02.1895  | 41   | 0,94            | 411                   | 0,86    | m |   |
| 5   | F.A. |            |      |                 |                       |         | w | + |
| 6   | F.J. |            |      |                 |                       |         | m | + |
| 7   | R.T. | 20.05.01   |      | 0,68            | 950                   |         | w | + |
| 8   | F.G. |            |      |                 |                       |         | m | + |
| 9   | G.E. | 29.10.05   | 39   | 0,98            | 100                   | 0,84    | w |   |
| 10  | F.L. |            |      |                 |                       |         | m | + |
| 11  | F.L. | 1.09.08    | 46,5 | 3,20            | 1522                  | 0,46    | m |   |
| 12  | F.F. | 20.07.10   | 41   | 2,29            | 507                   | 0,51    | m |   |
| 13  | F.M. | 12.07.12   |      |                 |                       |         | m | + |
| 14  | L.A. |            |      |                 |                       |         | w |   |
| 15  | B.C. |            |      |                 |                       |         | w |   |
| 16  | S.R. | 1.01.24    | 42   |                 |                       |         | w |   |
| 17  | F.M. | 1.06.25    | 45   | 1,00            | 610                   | 0,71    | m |   |
| 18  | E.S. | 24.02.28   | 41   | 0,96            | 590                   | 0,99    | w |   |
| 19  | H.H. | 5.01.30    | 42   | 2,20            | 1000                  | 0,66    | w |   |
| 20  | F.A. | 16.11.35   | 42   | 1,38            |                       | 0,74    | m |   |
| 21  | F.M. | 13.04.28   | 43   | 1,43            | 1254                  | 0,71    | m |   |
| 22  | F.H. | 13.04.28   | 42   | 1,10            | 518                   | 0,84    | m |   |
| 23  | K.E. | 19.07.32   | 41,5 | 1,70            | 850                   | 1,05    | w |   |

Fortsetzung der Tabelle 8: ( Familie 3 )

| Nr. | NAME  | Geb.Dat. | Hkt. | A L A<br>(mg/die) | PBG<br>( $\mu$ g/die) | URO 1-S | G | + |
|-----|-------|----------|------|-------------------|-----------------------|---------|---|---|
| 24  | F. R. | 29.03.36 | 45   | 3,50              | 100                   | 0,60    | m |   |
| 25  | R. A. | 19.06.25 | 45   | 1,50              | 613                   | 0,67    | w |   |
| 26  | S. E. |          |      | 1,27              | 862                   |         | w |   |
| 27  | R. H. | 20.07.26 | 46   | 1,16              | 1110                  | 0,82    | m |   |
| 28  | W. E. | 22.05.27 | 38,5 | 13,3              | 21278                 | 0,53    | w |   |
| 29  | G. T. | 15.03.28 | 44   |                   |                       | 0,69    | m |   |
| 30  | G. H. | 9.02.35  | 42   | 3,26              | 1749                  | 0,61    | m |   |
| 31  | G. A. | 4.11.39  | 45   | 1,9               | 100                   | 0,70    | m |   |
| 32  | S. L. | 21.08.42 | 38   | 0,87              | 1771                  | 0,70    | w |   |
| 33  | F. H. | 2.08.38  | 46,5 | 3,8               | 1866                  | 0,78    | m |   |
| 34  | F. H. |          |      |                   |                       |         | w | + |
| 35  | F. F. | 11.01.57 | 49   | 4,9               | 862                   | 0,42    | m |   |
| 36  | B. E. |          |      |                   |                       |         | w |   |
| 37  | S. H. | 55       | 44   |                   |                       | 0,66    | w |   |
| 38  | S. E. |          |      |                   |                       |         | w |   |
| 39  | S. W. |          |      |                   |                       |         | m |   |
| 40  | S. E. | 11.04.59 | 49   |                   |                       | 0,74    | w |   |
| 41  | F. M. | 17.06.57 |      | 1,0               | 450                   |         | m |   |
| 42  | F. J. | 29.03.64 | 41   | 1,9               | 800                   | 0,88    | m |   |
| 43  | E. M. |          |      | 1,9               | 790                   |         | w |   |
| 44  | E. R. | 10.11.49 | 43   | 2,1               | 1000                  | 1,01    | m |   |
| 45  | H. H. | 25.09.53 | 43   | 3,0               | 972                   | 0,81    | w |   |
| 46  | H. M. | 22.06.61 | 38   | 0,07              |                       | 0,61    | w |   |
| 47  | F. P. | 10.08.66 | 39,5 | 2,46              | 572                   | 0,55    | w |   |
| 48  | F. M. |          |      |                   | 542                   |         | m |   |
| 49  | F. C. | 14.08.56 |      |                   |                       |         | w |   |
| 50  | F. L. |          |      |                   |                       |         | m |   |

Fortsetzung der Tabelle 8: ( Familie 3 )

| Nr. | NAME             | Geb.Datum | Hkt. | ALA<br>(mg/die) | PBG<br>(µg/die) | URO 1-5 | G | + |
|-----|------------------|-----------|------|-----------------|-----------------|---------|---|---|
| 51  | F. H. J          | 9.12.52   | 43,5 | 1,9             | 1190            | 0,57    | m |   |
| 52  | F. B.            |           |      |                 |                 |         | w |   |
| 53  | K. W.            | 17.02.54  | 43,5 | 2,5/L           | 880/L           | 0,74    | m |   |
| 54  | K. T.            | 2.06.64   | 36   | 1,4             | 1200            | 0,75    | m |   |
| 55  | F. M.            | 29.05.61  | 39   | 3,29            | 1158            | 0,53    | w |   |
| 56  | F. K.            | 27.03.64  | 39,5 | 1,13            | 554             | 0,58    | w |   |
| 57  | S. G.            | 12.03.58  | 42   | 2,5             | 901             | 0,61    | w |   |
| 58  | S. E.            | 17.11.33  | 40   |                 |                 | 0,63    | w |   |
| 59  | W. S.            | 3.02.54   | 41   | 1,89            | 1220            | 0,44    | w |   |
| 60  | W. L.            | 28.05.56  | 46,5 | 1,91            | 1679            | 0,70    | m |   |
| 61  | G. R.            | 29.11.52  | 37   | 1,53            | 347             | 0,60    | w |   |
| 62  | G. N.            | 29.08.63  | 40   | 1,14            | 134             | 0,47    | m |   |
| 63  | G. M.            | 28.07.70  | 35   | 0,62            | 100             | 0,59    | w |   |
| 64  | G. E.            | 24.03.70  | 37   | 0,5 /L          | 440/L           | 0,59    | w |   |
| 65  | G. W.            | 30.04.65  | 35   | 1,6             | 1126            | 0,56    | m |   |
| 66  | S. A.            | 18.04.61  | 38   | 1,28            | 1126            | 0,55    | w |   |
| 67  | S. I.            | 8.12.61   | 36,5 | 0,48            | 939             | 0,55    | w |   |
| 68  | S. C.            | 24.08.63  | 35   | 1,12            | 838             | 0,57    | w |   |
| 69  | S. P.            | 25.03.70  | 37   | 0,46            | 1471            | 0,51    | w |   |
| 70  | F. H.            | 1.10.62   | 43   | 2,1             | 100             | 0,63    | m |   |
| 71  | F. E.            | 6.04.64   | 42   | 1,72            | 100             | 0,73    | m |   |
| 72  | F. M.            | 18.10.66  | 40   | 1,4             | 100             | 0,71    | w |   |
| 73  | F. A.            | 16.04.72  | 36   |                 |                 | 0,89    | w |   |
| 74  |                  |           |      |                 |                 |         |   |   |
| 75  | Nicht untersucht |           |      |                 |                 |         |   |   |
| 76  |                  |           |      |                 |                 |         |   |   |
| 77  |                  |           |      |                 |                 |         |   |   |

Tabelle 9 : Quantitative Bestimmungen von URO I - S in den Erythrozyten sowie von ALA und PBG im 24-Stunden-Urin bei Familie 4 ( B. H. )

Familie 4 :

| Nr. | NAME  | Geb. Datum | Hkt. | ALA<br>(mg/die) | PBG<br>( $\mu$ g/die) | URO I-S | G | + |
|-----|-------|------------|------|-----------------|-----------------------|---------|---|---|
| 1   | B. H. | 16.01.1870 |      |                 |                       |         | m | + |
| 2   | B. M. | 5.06.1877  |      |                 |                       |         | w | + |
| 3   | B. A. | 20.12.1899 |      |                 |                       |         | m | + |
| 4   | B. L. | 13.12.04   |      |                 |                       |         | m | + |
| 5   | B. R. | 26.1.05    | 37,5 | 3,23            | 8780                  | 0,36    | w |   |
| 6   | W. R. | 30.1.20    | 38   | 0,62            | 2540                  | 0,84    | w |   |
| 7   | W. M. | 9.1.24     | 43   | 0,41            | 840                   | 0,89    | w |   |
| 8   | R. M. |            |      |                 |                       |         | w |   |
| 9   | B. K. | 13.4.06    |      |                 |                       |         | w |   |
| 10  | B. T. | 13.12.08   | 36   | 0,14/L          | 1320/L                | 0,62    | w |   |
| 11  | B. H. | 15. 3.11   |      |                 |                       |         | m | + |
| 12  | B. R  | 17. 9.13   | 46   |                 |                       | 0,65    | m |   |
| 13  | B. A. | 3. 4.21    | 37   | 1,07/L          | 2376/L                | 0,68    | w |   |
| 14  | B. A. | 28. 1.37   | 47   |                 |                       | 0,89    | m |   |
| 15  | B. R. | 27. 4.38   | 48   |                 |                       | 0,67    | m |   |
| 16  | B. J. | 13. 8.39   | 45   |                 |                       | 0,74    | m |   |
| 17  | B. H. |            |      |                 |                       |         | m |   |
| 18  | B. K. | 23. 2.34   | 41,5 | 0,18/L          | 2200/L                | 0,50    | w |   |
| 19  | B. H. | 4. 2.39    |      |                 |                       |         | m | + |
| 20  | B. M. |            |      |                 |                       |         | w | + |
| 21  | B. H. |            |      |                 |                       |         | m | + |
| 22  | B. K. |            |      |                 |                       |         | m | + |
| 23  | B. R. |            |      |                 |                       |         | w | + |
| 24  | S. R. | 5.12.52    | 40   | 0,5             | 670                   | 0,83    | w |   |
| 25  | L. M. | 27. 5.42   | 50   | 1,13            | 500                   | 0,72    | m |   |
| 26  | L. B. |            |      |                 |                       |         | m |   |

Fortsetzung der Tabelle 9: Familie 4

| Nr. | NAME  | Geb.Datum | Hkt. | A L A<br>(mg/die) | P B G<br>(µg/die) | URO I-S | G | + |
|-----|-------|-----------|------|-------------------|-------------------|---------|---|---|
| 27  | B. K. | 44        |      |                   |                   |         | w |   |
| 28  | A. M. | 16.11.40  | 41,5 |                   |                   | 0,67    | w |   |
| 29  | B. J. | 14.03.49  | 43   |                   |                   | 0,72    | m |   |
| 30  | B. H. | 21.03.54  |      |                   |                   |         | m | + |
| 31  | F. J. | 29.05.42  | 38   |                   |                   | 0,85    | w |   |
| 32  | B. H. |           |      |                   |                   |         | m |   |
| 33  | S. P. | 24.03.39  | 42   |                   |                   | 0,73    | w |   |
| 34  | S. W. | 16.05.41  | 45   |                   |                   | 0,66    | m |   |
| 35  | S. G. | 27.12.57  | 47   |                   |                   | 0,64    | m |   |
| 36  | S. H. |           |      |                   |                   |         | w |   |
| 37  | B. M. | 6.01.61   | 38   |                   |                   | 0,78    | w |   |
| 38  | B. S. | 11.02.67  | 44   |                   |                   | 0,68    | w |   |
| 39  | B. S. | 7.05.69   | 38   |                   |                   | 0,92    | w |   |
| 40  | B. C. |           |      |                   |                   |         | w |   |
| 41  | B. J. |           |      |                   |                   |         | m |   |
| 42  | B. E. | 20.06.54  |      | 1,96              | 950               |         | m |   |
| 43  | B. R. | 4.07.58   | 37   | 1,03              | 1530              | 0,62    | w |   |
| 44  | B. F. | 5.08.60   | 39   | 1,23              | 810               | 0,68    | m |   |
| 45  | B. M. | 22.05.65  | 39   | 0,22/L            | 1408/L            | 0,56    | w |   |
| 46  | F. M. | 1.08.49   | 44   | 1,12              | 1480              | 0,52    | w |   |
| 47  | F. F. | 1.05.54   | 51   | 1,43/L            | 1024/L            | 0,43    | m |   |
| 48  | S. M. |           |      |                   |                   |         | m |   |
| 49  | L. U. | 8.01.68   |      | 0,83              | 980               |         | m |   |
| 50  | L. M. | 2.11.66   |      | 0,8               | 600               |         | m |   |
| 51  | B. B. | 28.05.63  |      |                   |                   |         | w |   |
| 52  | F. M. | 30.11.67  | 38   |                   |                   | 0,74    | m |   |



Die Einzelwerte der URO I-S-Aktivitätsmessungen sind als Häufigkeitsverteilung in Abbildung 7 dargestellt.

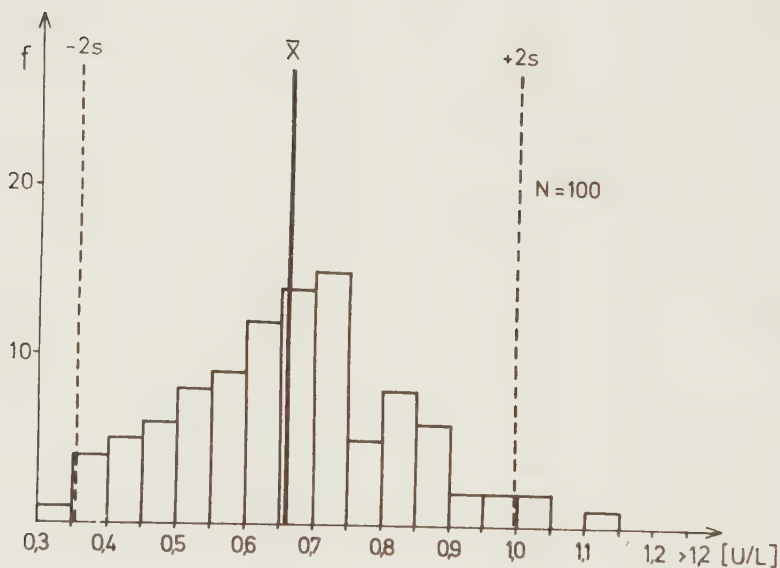


Abbildung 7 : Häufigkeitsverteilung der URO I-S-Aktivität bei 100 Angehörigen aus Porphyriker-Familien. Auf der Abszisse ist die Enzymaktivität in U/L aufgetragen. Der Mittelwert beträgt 0,67 U/L, die Standardabweichung 0,16 U/L.

Die Enzymaktivitäten schwanken zwischen 0,34 U/L und 1,13 U/L. Die mittlere URO I-S-Aktivität beträgt 0,67 U/L ( Tabelle 10 ).

Tabelle 10 : URO I-S-Aktivität bei Porphyriker-Familien

| N   | $\bar{x}$ ( U/L ) | S ( U/L ) |
|-----|-------------------|-----------|
| 100 | 0,67              | 0,16      |

N = Anzahl der untersuchten Personen aus 4 Porphyriker-Familien

$\bar{x}$  = Mittelwert

S = Streubreite

Beim statistischen Vergleich der beiden Kollektive ergab sich ein t- Wert von 6,23847. Damit unterscheiden sich die beiden Kollektive hochsignifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,001$ .

Insbesondere zeigte sich bei dieser Studie, daß bei den Untersuchungen an größeren Kollektiven keineswegs eine so klare Abgrenzung zwischen den Patienten mit manifester oder latenter Porphyrie und den von dem genetischen Defekt nicht betroffenen Familienangehörigen oder den Personen des Vergleichskollektives besteht. Wie auch bei den Erhebungen SASSAs 1974 ( 32 ) wurde deutlich, daß innerhalb der Porphyriker-Familien und des Vergleichskollektives eine erhebliche Schwankungsbreite der URO I-S-Aktivität auftritt. Wie Abbildung 8 zeigt, kommt es zu Überschneidungen der Enzymaktivitäten beider Kollektive. Legt man die zweifache Standardabweichung für die Berechnung der unteren Normgrenze zugrunde, so ergibt sich ein Wert von 0,51 U/L. Unsere Erfahrungen haben jedoch gezeigt, daß auch bei Patienten mit AIP URO I-S-Werte oberhalb dieser Grenze gemessen wurden. Untersuchungen bei 6 weiteren AIP-Kranken erlaubten die Festlegung

eines Grenzwertes von 0,65 U/L. Im Konzentrationsbereich von 0,3 bis 0,65 U/L liegen 45 % der Angehörigen von Porphyriker-Familien, unter ihnen alle bisher von uns untersuchten Patienten mit AIP. Andererseits ist aus der Abbildung 8 zu entnehmen, daß durch diese Grenzwertfestsetzung bei einer URO I-S-Aktivität von 0,65 U/L noch etwa 17,7 % der Normalpersonen falsch positiv eingestuft werden.

Wir gehen deshalb davon aus, daß bei der Bestimmung der URO I-S-Aktivität in Porphyriker-Familien alle Familienangehörigen, deren Enzymaktivität unterhalb 0,65 liegt, als Träger des genetischen Defektes anzusehen sind, auch wenn sich sonst keine typischen Ausscheidungsmuster von PBG und ALA im 24-Stunden-Urin finden und noch keine klinischen Symptome für das Vorliegen einer akuten intermittierenden Porphyrie sprechen.

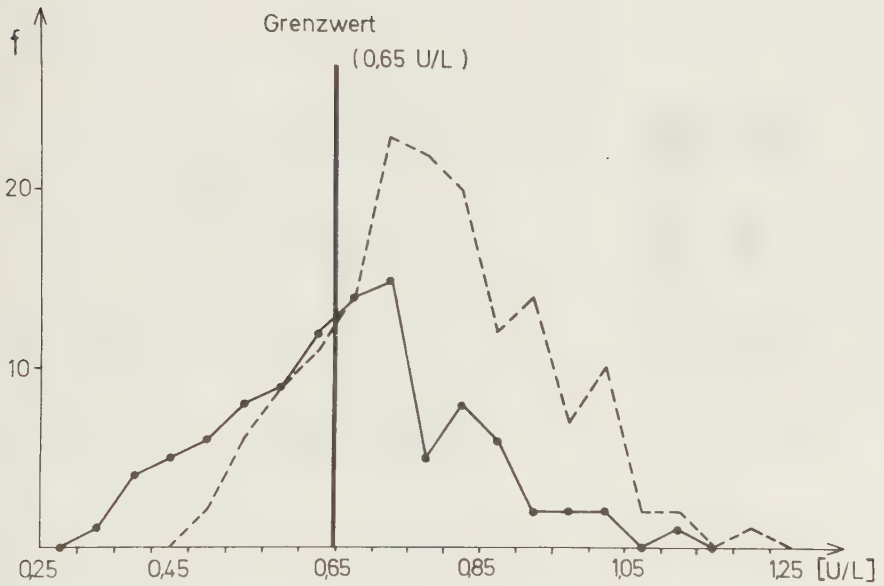


Abbildung 8 : Häufigkeitsverteilungen der URO I-S-Aktivität bei Angehörigen von 4 Porphyriker-Familien (  $N = 100$  ) und einem Vergleichskollektiv (  $N = 159$  ). Der Grenzwert liegt bei 0,65 U/L ( nähere Einzelheiten siehe Text ).

Bei einem Grenzwert von 0,65 U/L ergeben sich nun für die von uns untersuchten Familien 1, 2, 3 und 4 die nachstehenden Stammbäume, wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung haben



Manifeste AIP



Klinisch symptomlose AIP



Latente Träger des genetischen Defektes



Keine Hinweise für das Vorliegen des genetischen Defektes

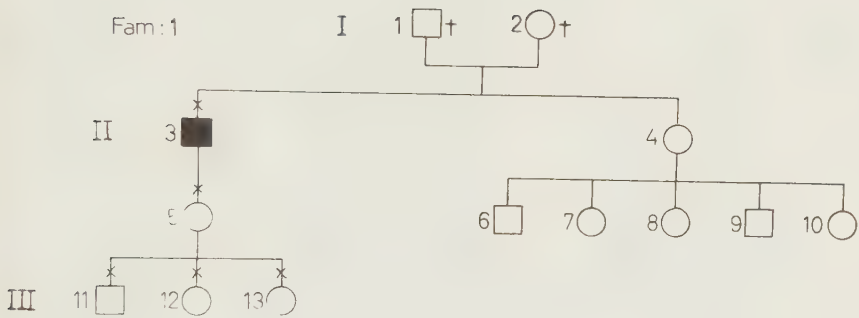


Abbildung 8: Stammbaum von Familie I ( Zeichenerklärung siehe Text ).

Herr B. befand sich 1974 zu einer ambulanten Untersuchung  
in der Universitäts-Nervenlinik Erlangen.

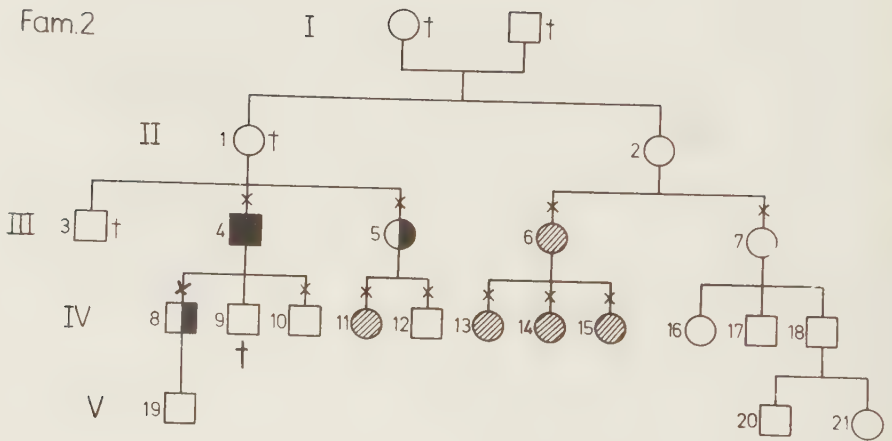


Abbildung 9 : Stammbaum von Familie 2. ( Zeichenerklärung siehe Text )

Herr S. befand sich 1965 wegen einer Porphyrie-Polyneuropathie  
in stationärer Behandlung in der Universitäts-Nervenlinik Erlangen.

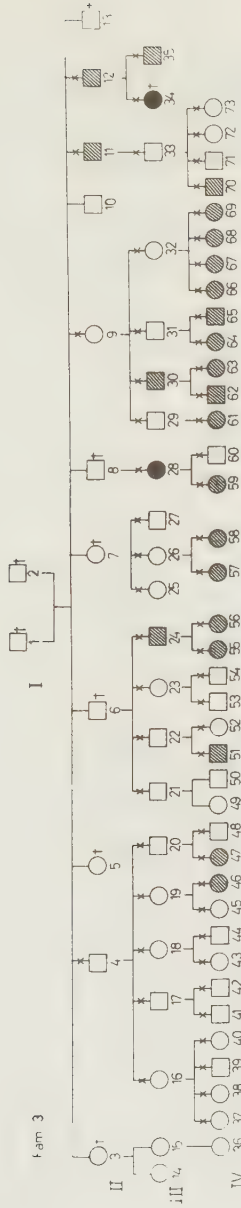


Abbildung 10: Stammbaum von Familie 3 ( Zeichenerklärung siehe Text ). Frl. F. verstarb 1972 nach Auftreten einer Porphyriepolyneuropathie in der Intensivstation der Universitäts - Nervenklinik Erlangen.

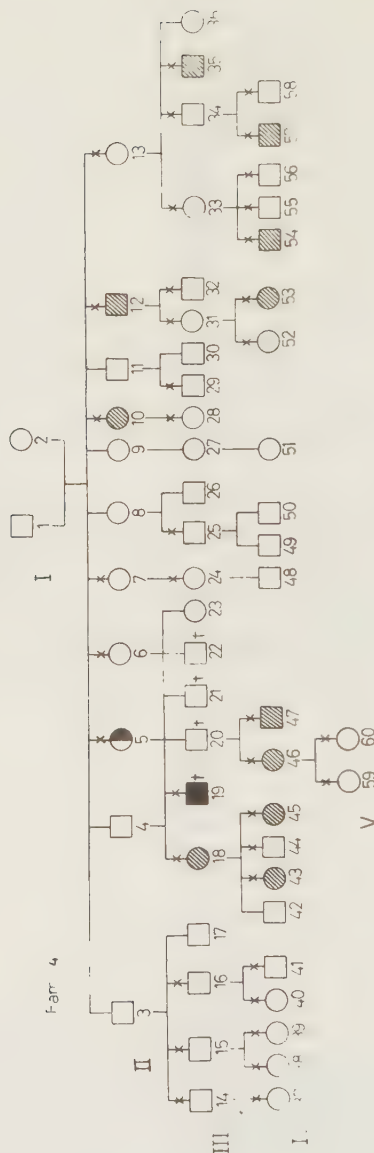


Abbildung 11: Stammbaum von Familie 4 ( Zeichenerklärung siehe Text ).

Herr B. verstarb 1963 nach Auftreten einer Porphyrie-Polynuropathie in der Universitäts-Nervenlinik Erlangen.

Leider ist gegenwärtig noch kein Vergleich der mit unserer Methode erarbeiteten URO I-S-Werte mit den Angaben der anderen Autoren ( 24, 25, 26, 30, 31, 32 ) möglich, da bei der URO I-S noch keine Standardisierung der Enzymbestimmung durchgeführt wurde. In Anlehnung an SASSA ( 32 ) gestatten nun die erhaltenen URO I-S-Werte innerhalb der Porphyriker-Familien eine Einteilung in verschiedene Klassen ( Tabelle 13 ) :

Klasse I kennzeichnet die Patienten mit klinisch manifester akuter intermittierender Porphyrie, bei denen erniedrigte URO I-S-Aktivitäten und eine erhöhte Exkretion von ALA und PBG vorliegen.

Die Angehörigen der Klasse II weisen die gleichen typischen, biochemischen Ausscheidungsmuster im Urin auf, die URO I-S ist erniedrigt, doch fehlt die klinische Symptomatik der AIP.

In die Klasse III werden Mitglieder aus Porphyriker-Familien eingestuft, deren URO I-S-Aktivität innerhalb des pathologischen Bereiches von 0,3 bis 0,65 U/L liegt, die also als Träger des genetischen Defektes anzusehen sind, doch ansonsten weder klinisch noch biochemisch Hinweise für das Vorliegen einer AIP bieten ( latente Träger ).

In die Klasse IV sind die Familienangehörigen einzureihen, die nicht mit der genetischen Abnormalität behaftet sind und deren URO I-S-Aktivität oberhalb des Grenzwertes von 0,65 U/L liegt.

Die Tabelle 14 zeigt, wie sich die Angehörigen der Porphyriker-Familien auf die einzelnen Klassen verteilen.

Tabelle 13 : Häufigkeit ( in % ) der Angehörigen aus Porphyriker-Familien in den einzelnen Klassen

| Klasse          | I | II | III | IV |
|-----------------|---|----|-----|----|
| Häufigkeit<br>% | 3 | 4  | 38  | 55 |

Tabelle 14 : Einteilung der Angehörigen aus Porphyriker-Familien nach Klassen innerhalb der einzelnen Familien ( nähere Einzelheiten siehe Text ).

| Familie                             |     | 1 | 2  | 3  | 4  |
|-------------------------------------|-----|---|----|----|----|
| Anzahl der untersuchten Angehörigen |     | 5 | 10 | 50 | 35 |
| K L A S S E N                       | I   | 1 | 1  | 1  | 0  |
|                                     | II  | 0 | 3  | 0  | 1  |
|                                     | III | 0 | 4  | 23 | 11 |
|                                     | IV  | 4 | 2  | 26 | 23 |

Als Träger des genetischen Defektes sind alle Angehörigen aus Porphyriker-Familien anzusehen, die nach unserer Einteilung in die Klassen I, II, III fallen.

Aus der folgenden Tabelle 15 ist die Geschlechtsverteilung der Angehörigen dieser Familien und ihre Zugehörigkeit zu den Klassen I bis III ( Träger des genetischen Defektes ) und IV ( genetischer Defekt auszuschließen ) zu entnehmen.

Tabelle 15 : Geschlechtsverteilung der Patienten aus den Klassen I, II und III innerhalb der Familien 1, 2, 3, 4.

| Familie | G e s a m t |          | I - III  |        |    |
|---------|-------------|----------|----------|--------|----|
|         | weiblich    | männlich | weiblich | männl. |    |
| 1       | 3           | 2        | 0        | 1      | 5  |
| 2       | 6           | 4        | 6        | 2      | 10 |
| 3       | 26          | 24       | 16       | 9      | 50 |
| 4       | 19          | 16       | 7        | 5      | 35 |
|         | 54          | 46       | 29       | 17     |    |

## V. DISKUSSION

---

TSCHUDY und Mitarb. ( 43 ) wiesen 1965 in der Leber eines Patienten mit AIP einen Aktivitätsanstieg der ALA-Synthetase nach. Diese Beobachtung führte zunächst zu der Theorie, daß die Überproduktion der ALA den primären genetischen Defekt dieser autosomal-dominant vererbten Erkrankung darstellt. Weiterhin konnten GRANICK und Mitarb. ( 14 ) zeigen, daß die Induktion der ALA-Synthetase im Tierversuch durch bestimmte Chemikalien eine der menschlichen hepatischen Porphyrrie stark ähnelnde, biochemische Störung erzeugt.

Die Aktivitätssteigerung der ALA-Synthetase konnte jedoch nicht allein die verschiedenen Ausscheidungsmuster von Porphyrin-Präkursoren und Porphyrinen erklären, die für jede der genetisch bedingten, hepatischen Porphyrien spezifisch sind. Auch führte die perorale Verabreichung großer ALA-Mengen an gesunden Personen zu einer erhöhten Ausscheidung aller erfaßbaren Stufen des Porphyrin-Stoffwechsels ( 29 ). Eine Bevorzugung eines speziellen Syntheseschrittes konnte nicht nachgewiesen werden. Diese Befunde decken sich mit Tierversuchen, bei denen die ALA-S chemisch induziert worden war ( 14 ). Stellt also der Anstieg der ALA-Synthetase-Aktivität bei allen genetisch bedingten, hepatischen Porphyrien nicht die primäre Störung dar, müßten zusätzliche Faktoren zur Erklärung der unterschiedlichen Ausscheidungsmuster bestehen.

HEILMEYER und CLOTTEN ( 15 ) fanden bereits 1968 die Urinausscheidung von ALA und PBG gegenüber der Ausscheidung von Porphyrinen außerordentlich erhöht und schlossen daraus, daß bei der AIP ein echter Block in der Synthese von Uroporphyrin aus PBG vorliegt. Experimentelle Untersuchungen von STRAND und Mitarb. ( 36,37,38 ) und MIYAGI ( 27 ) zeigten tatsächlich, daß bei Patienten mit AIP die URO I-S-Aktivität in der Leber im Vergleich zu Normalpersonen oder Patienten mit den beiden anderen, genetisch bedingten, hepatischen Porphyrien erniedrigt ist.

Dieser Enzymdefekt konnte auch von MEYER und Mitarbeitern ( 26 ) und STRAND und Mitarb. ( 38 ) in den Erythrozyten nachgewiesen werden. Diese Autoren analysierten die URO I-S-Aktivität in Erythrozyten-Hämolysaten von AIP-Patienten und fanden eine nahezu um 50 % reduzierte Enzymaktivität bei diesen Kranken. Die Aktivitätsmessungen bei Patienten mit Porphyrria variegata oder hereditärer Koproporphyrrie entsprachen denen von Normalpersonen. Diese teilweise Blockierung der Uroporphyrinogen III-Synthese erklärt die schon von HEILMEYER festgestellte erhöhte Urinausscheidung von ALA und PBG bei normaler oder leicht erhöhter Porphyrin-Exkretion im Urin.

Die daraufhin erfolgten Familienuntersuchungen ( 26, 31, 32 ) legten die Vermutung nahe, daß die verminderte Aktivität der URO I-S den primären genetisch bedingten Defekt bei der AIP darstellt, wodurch insbesondere eine Erfassung der latenten Träger der autosomal-dominant vererbten Häm-Stoffwechselstörung möglich wäre.

Für die genetische Kontrolle der URO I-S sprechen die Ergebnisse von MEYER und Mitarb. ( 24, 26 ). Bei einer Familienuntersuchung zeigten alle AIP-Patienten und 6 von 14 Kindern URO I-S-Werte, die etwa 50 % der Enzymaktivität von den Kontrollpersonen und den meisten der nicht betroffenen Familienangehörigen betrug. SASSA und Mitarb. ( 32 ) bestätigten bei Untersuchungen der URO I-S an 64 Normalpersonen und 10 Patienten mit klinisch gesicherter AIP zwar, daß zwischen der URO I-S-Aktivität von AIP-Patienten und Normalpersonen ein hochsignifikanter Unterschied besteht, doch zeigte es sich, daß eine erhebliche Schwankungsbreite der Enzymaktivität sowohl innerhalb der Kontrollgruppe wie auch unter den Patienten mit AIP auftritt. Da sich die Werte der Angehörigen aus Porphyriker-Familien und des Vergleichskollektives teilweise überschneiden, ist eine diagnostische Zuordnung von Personen, deren URO I-S-Aktivität in diesem Bereich liegt, ohne Familienuntersuchungen schwierig.

Trotz dieser Schwankungsbreite gibt es jedoch kaum Zweifel, daß die verminderte URO I-S-Aktivität den genetisch bedingten primären Enzymdefekt

dieser Erkrankung darstellt ( 10, 11, 24, 25, 30 ). Dies wird durch Untersuchungen an eineiigen Zwillingen bekräftigt. Hier bestand trotz der großen Streubreite der Enzymaktivität eine sehr enge Korrelation der URO I-S ( 24 ). Weiterhin fand MEYER ( 24 ) nach Verabreichung oraler Mengen von ALA an Angehörige aus Porphyriker-Familien mit erniedrigter URO I-S-Aktivität keinen Anstieg der fäkalen Exkretion von Protoporphyrinen. Diese Patienten glichen also in ihren Ausscheidungsmustern den AIP-Patienten mit endogener ALA-Überproduktion. Eine dieser Personen mit erniedrigter URO I-S-Aktivität erkrankte 6 Monate später außerdem mit erhöhten ALA- und PBG- Werten im Urin an einem akuten Schub mit entsprechender klinischer Symptomatologie.

Unsere Untersuchungen über die intraindividuelle Schwankungsbreite und die Tagesrhythmik der URO I-S sprechen ebenfalls für eine genetische Kontrolle der Enzymaktivität. Die Ergebnisse bei Enzymbestimmungen an 100 Familienangehörigen aus 4 Porphyriker-Familien und an einem Vergleichskollektiv von 159 Frauen, Männern und Kindern ergaben in Übereinstimmung mit der Literatur, daß hochsignifikante Unterschiede (  $p < 0,001$  ) zwischen den Kollektiven bestehen, Überschneidungen der Werte jedoch vorhanden sind. Ein Vergleich der mit unserer Methode erhaltenen Werte mit den Angaben der anderen Autoren ist nicht möglich. Zum einen werden nicht standardisierte Analyseverfahren, zum anderen unterschiedliche Einheiten verwendet. Von uns wurde die Enzymaktivität in "internationalen Einheiten" ausgedrückt, wobei wir darunter die Enzymmenge verstehen, die die Umwandlung von  $1 \mu$  Mol Substrat in einer Minute unter Standardbedingungen katalysiert.

Für die Validität der URO I-S-Bestimmung war es notwendig, einen pathologischen Bereich festzulegen, der alle Träger des genetischen Defektes in Porphyriker-Familien erfaßt. Bei unseren Familienuntersuchungen und weiteren Messungen an AIP-Patienten aus anderen Familien überschritt die URO-I-S Aktivität bei keinem der untersuchten Fälle den Wert von 0,65 U/L. Alle Patienten mit dem klinischen Erscheinungsbild einer AIP sowie Patienten mit dem biochemischen Ausscheidungsmuster einer AIP ohne klinische Sympto-

matik lagen zwischen 0,34 und 0,65 U/L. Dieser Grenzwert ist für Frauen, Männer und Kinder verwendbar, da sich keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen Kollektiven fanden. Innerhalb dieses pathologischen Bereiches lagen ca. 45 % der von uns untersuchten Familienangehörigen aus Porphyriker-Familien. Diese Zahl entspricht in etwa dem bei einem autosomal-dominanten Erbgang möglichen maximalen Verhältnis von 1 : 1 zwischen Trägern des genetischen Defektes und gesunden Familienangehörigen. Die mittlere Enzymaktivität unseres Vergleichskollektives betrug  $0,79 \pm 0,14$  U/L. Unter Zugrundelegung der doppelten Standardabweichung erreichten 95 % der Normalpersonen Werte zwischen 0,51 und 1,07 U/L. Die Aktivitätsmessungen bei Angehörigen von Porphyriker-Familien ergaben einen Mittelwert von 0,67 U/L. Die Werte lagen zwischen 0,34 und 1,13 U/L. Die Überschneidung der beiden Verteilungskurven stimmt mit den Aussagen von SASSA überein.

Durch die zusätzliche Bestimmung der URO I-S in den Erythrozyten als weiteren Parameter für die Erfassung akuter und latenter Porphyrie-Patienten ist es uns möglich, Angehörige aus Porphyriker-Familien in 4 Klassen einzuteilen. Die Klassen I bis III beinhalten die Träger des genetischen Defektes. In der Klasse IV sind die Familienangehörigen einzugliedern, bei denen sich keinerlei Hinweise für das Vorliegen einer genetischen Abnormalität im Häm-Stoffwechsel finden lassen (Tabelle 16). Speziell bei Kindern ist der Befund einer erniedrigten URO I-S-Aktivität ohne zusätzliche Parameter für die Diagnosestellung nicht ausreichend, da auch 17,7 % der Normalpersonen innerhalb des von uns als pathologisch bezeichneten Bereiches liegen. Jedoch können Kinder vor der Pubertät, deren Werte den Durchschnittswerten des Vergleichskollektives entsprechen oder aber darüber liegen, sicher als Träger des genetischen Defektes dieser hereditären Erkrankung ausgeschlossen werden.

Tabelle 16: Einteilung der Angehörigen aus Porphyriker - Familien in 4 Klassen unter Berücksichtigung der biochemischen Befunde und der klinischen Ausgestaltung. Die Klassen I bis III enthalten die genetischen Merkmalsträger. Die Enzymaktivität der URO I-S ist in U/L angegeben.

| KLASSE | Klinische Ausgestaltung                                            | Biochemische Befunde |         |        |
|--------|--------------------------------------------------------------------|----------------------|---------|--------|
|        |                                                                    | in den Erythrozyten  | im Urin |        |
|        |                                                                    | URO I - S            | ALA     | PBG    |
| I      | klinisch manifeste AIP                                             | ↓ < 0,65             | ↑       | ↑      |
| II     | AIP ohne klinische Symptomatik                                     | ↓ < 0,65             | ↑       | ↑      |
| III    | "latente" Träger des genetischen Defektes                          | ↓ < 0,65             | normal  | normal |
| IV     | kein Hinweis für das Vorliegen einer Porphyrinstoffwechselstörung. | > 0,65               | normal  | normal |

Bei unseren Familienuntersuchungen konnten 3 % der Angehörigen in Klasse I, 4 % in Klasse II, 38 % in Klasse III und 55 % in Klasse IV eingeordnet werden. Der Anteil der Patienten mit manifester AIP erscheint relativ gering, was durch die hohe Letalität der Erkrankung bedingt ist.

Die zusätzliche Bestimmung der URO I-S-Aktivität in den Erythrozyten erlaubt, außer den mit den bisherigen Verfahren der Hämpräkursoren-Bestimmung diagnostizierten Patienten eine weitere Klasse latenter Träger zu erfassen, die etwa 40 % der gesamten Familienangehörigen ausmacht. Damit sind wir in der Lage, durch Bestimmung der URO I-S in Porphyriker-Familien mit hoher Wahrscheinlichkeit die latenten Träger der Erkrankung zu finden und durch gezielte Führung einen präventiv-medizinischen Beitrag von hoher Validität zu leisten. Dies kommt den heutigen von Gesellschaft, Staat und Öffentlichkeit gestellten Anforderungen entgegen, die kurative Medizin durch präventiv-medizinische Maßnahmen zu ergänzen ( 44 ). In immer stärkerem Umfang werden Prävention, Vorsorge und Verhinderung verlangt ( 33 ).

Allerdings bleiben bei dem Krankheitsbild der AIP noch viele Fragen offen. Die Erniedrigung der URO I-S-Aktivität reicht für die Erklärung der klinischen Symptomatik und der biochemischen Abläufe allein nicht aus. Hierfür müssen noch andere Faktoren vorliegen. So konnten KAPPAS und Mitarb. ( 20, 21 ) zeigen, daß bei AIP-Patienten ein gestörter Metabolismus der Steroid-Hormone vorliegt. Die nachgewiesene Verringerung der Aktivität der Steroid-Delta<sup>4</sup>-5 - Alpha-Reduktase bedingt einen Anstieg der Bildung von 5 - Beta - gegenüber der Synthese von 5 - Alpha - Metaboliten von Testosteron. Die 5 - Beta - Steroide wiederum stellen im Experiment starke Induktoren der ALA-Synthetase in der Leber dar ( 18, 20, 21 ). Diese weitere Enzymstörung kann als mögliche Ursache der Manifestation dieser Erkrankung zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr, also erst nach der Pubertät, angesehen werden.

Es besteht jedoch kein Zweifel an der zentralen Bedeutung der genetisch bedingten URO I-Synthetase-Störung in der Pathogenese der AIP.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die akute intermittierende Porphyrie ( AIP ) ist die von den verschiedenen hepatischen Porphyrinen am häufigsten auftretende Erkrankung. Sie weist eine hereditäre Genese auf, die Vererbung erfolgt autosomal-dominant mit unterschiedlicher Expressivität. Der primäre genetische Defekt bewirkt eine verminderte Aktivität der hepatischen Uroporphyrinogen I-Synthetase. Die dadurch bedingten Blockierungen in der Porphyrin- und Häm-synthese beeinflussen den negativen Rückkoppelungsmechanismus für die Bildung der Delta-Aminolävulinsäure-Synthetase in der Leber. Eine Anhäufung von Porphyrin-Vorstufen, ALA und PBG in der Leber und dem Plasma und eine gesteigerte Ausscheidung dieser Substanzen mit dem Urin sind die Folge. Ihre quantitative Bestimmung wird zur Diagnostik einer AIP verwendet.

Die Klinik der AIP ist vielgestaltig und berührt mehrere Fachdisziplinen. Häufig stehen kolikartige Lebeschmerzen im Vordergrund. In vielen Fällen werden kardiovaskuläre Störungen hervorgerufen. Oft finden sich auch neuropsychiatrische Krankheitszeichen. Meist wird dann erst die Diagnose gestellt. Eine Frühdiagnose ist deshalb so wichtig, weil zahlreiche Medikamente akute Verschlechterungen mit möglicherweise deletärem Ausgang hervorrufen können.

In neueren Arbeiten wurde sowohl bei Patienten mit AIP wie auch bei den latenten Merkmalsträgern eine verminderte Aktivität der Uroporphyrinogen I-Synthetase ( URO I-S ) in den Erythrozyten nachgewiesen. Die Messung dieser Enzymaktivität schien als diagnostisches Kriterium zur Früherkennung der Merkmalsträger dieser Erkrankung geeignet.

Mit einer einfachen, in unseren Laboratorien erarbeiteten, fluorimetrischen Methode zur Bestimmung der URO I-S in den Erythrozyten wurde zur Ermittlung von Normalwerten zunächst ein Vergleichskollektiv aus 159 Frauen, Männern und Kindern untersucht. Der Mittelwert der URO I-S-Aktivität betrug 0,79 U/L. Statistisch war keine Geschlechts- und Alters-

abhängigkeit der Enzymaktivität vorhanden, jedoch lag eine große interindividuelle Schwankungsbreite vor. Die intraindividuellen Schwankungen bewegten sich im Bereich des methodischen Fehlers.

Außerdem wurde zur Erfassung der latenten Träger dieses Enzymdefektes bei 100 Familienmitgliedern aus 4 Porphyriker-Familien die URO I-S quantitativ in den Erythrozyten bestimmt. Der Mittelwert der Enzymaktivität betrug 0,67 U/L. Alle an einer AIP erkrankten Personen zeigten deutlich erniedrigte Enzymaktivitäten gegenüber dem Normalkollektiv. Im t-Test nach STUDENT unterschieden sich die Enzymaktivitäten der beiden Kollektive hochsignifikant. Aus diesen Ergebnissen und weiteren Untersuchungen an Personen mit bekannter AIP war es uns möglich, einen Grenzwert für die URO I-S in den Erythrozyten zu erarbeiten. Bei allen Personen aus Porphyriker-Familien muß bei Enzymaktivitäten unterhalb des Grenzwertes von 0,65 U/L das Vorliegen des genetischen Defektes angenommen werden. Durch die Einführung der URO I-S-Bestimmung als weiteren diagnostischen Parameter der AIP war eine Einteilung dieser Familienmitglieder in 4 Klassen möglich. Bei unseren Untersuchungen wurden 38 Personen aus 4 Porphyriker-Familien als latente Träger dieser Erkrankung eingestuft, bei 7 Personen bestand entweder klinisch eine AIP oder es lagen eindeutige biochemische Befunde mit vermehrter Exkretion von ALA und PBG im Urin vor.

Durch die einfache klinische Anwendbarkeit unserer Methodik ist es möglich, durch routinemäßige Familienuntersuchungen bei AIP-Patienten bereits im Kindesalter durch Messungen der URO I-S-Aktivität die latenten Träger dieser Erkrankung zu erfassen. Eine Prognoseverbesserung dieser mit einer hohen Letalität behafteten Krankheit durch Aufdeckung der latenten Merkmalsträger und Vermeidung akuter Attacken durch gezielte ärztliche Führung bei den latenten Porphyrikern ist zu erwarten.

## VI. LITERATURVERZEICHNIS

---

- 1) Berlin, N. J., A. Neuberger, J. S. Scott: The metabolism of delta-aminolaevulinic acid. *Biochem. J.* 64, 90 ( 1956 )
- 2) Calissano, P., D. Bonsignore, C. Cartasegna: Control of haem synthesis by feedback inhibition on human-erythrocyte delta-aminolaevulinic dehydratase. *Biochem. J.* 101, 550 ( 1966 )
- 3) Davis, J. R., S. L. Andelman : Urinary delta-aminolevulinic acid ( ALA ) levels in lead-poisoning. A modified method for the rapid determination of urinary ALA using disposable ion-change chromatography columns. *Arch. environm. Hlth.* 15, 53 ( 1967 )
- 4) Doss, M. : Metabolism of delta-aminolaevulinic acid and porphobilinogen in human erythrocytes in acute intermittent porphyria. *Enzyme* 16, 343 ( 1973 )
- 5) Doss, M. : Klinische Biochemie und Laboratoriumsmedizin der hepatischen Porphyrrien. *Diagnostik* 7, 489 (1974 )
- 6) Doss, M. , A. Schmidt: Qualitative Bestimmung von Delta-Aminolävulinsäure und Porphobilinogen im Urin mit Ionenaustauschchromatographie - Fertigstülen. *Z. klin. Chem.* 9, 99 ( 1971 )
- 7) Dowdle, E.B., P. Mustard, L. Eales: Delta-aminolaevulinic acid synthetase activity in normal and porphyric human livers. *S. African. Med. J.* 41, 1093 ( 1967 )
- 8) Dowdle, E., P. Mustard, N. Spong, L. Eales: The metabolic of ( 5 - <sup>14</sup> C ) delta-aminolaevulinic acid in normal and porphyric subjects. *Clin. Sci.* 34, 233 ( 1968 )

- 9) Druschky, K.-F.: Therapeutische Aspekte der akuten intermittierenden Porphyrrie.  
14. Neuropsychiatrisches Symposium, Pula 1974
- 10) Druschky, K.-F., K.-H. Schaller, G. Ulrich: Diagnostische und therapeutische Gesichtspunkte der akuten intermittierenden Porphyrrie.  
Inn. Med. 2, 92 ( 1974 )
- 11) Druschky, K.-F., K.-H. Schaller, H. Kammerer: Die Bestimmung der Uroporphyrinogen I-Synthetase- eine Methode zur Diagnostik und Früherkennung der akuten intermittierenden Porphyrrie. 81. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, Wiesbaden 1975 ( in Vorbereitung )
- 12) Eisenburg, J. : Die hepatischen Porphyrrien. Med. Klinik 68, 789 ( 1973 )
- 13) Elder, G. H., C. H. Gray, D. C. Nicholson: The porphyrias: a review.  
J. clin. Path. 25, 1013 ( 1972 )
- 14) Granick, S., S. Sassa, J.L. Granick, R.D. Levere, A. Kappas: Assays for porphyrins, delta-aminolevulinic acid dehydratase and porphyrinogen synthetase in microliter samples of whole blood: applications to metabolic defects involving the heme pathway.  
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69, 2381 ( 1972 )
- 15) Heilmeyer, L., R. Clotten: Zur biochemischen Pathogenese der Porphyrria acuta intermittens. Klin. Wschr. 47, 71 ( 1969 )
- 16) Heilmeyer, L., R. Clotten, L. Heilmeyer, Jr.: Die Störungen der Bluthäm-synthese. Thieme, Stuttgart 1964
- 17) Hopmann, R. : Akute intermittierende ovulozyklische Porphyrrie und ihre Behandlung. Dtsch. Med. Wschr. 93, 76 ( 1968 )

- 18) Hutton, J. J., Coleman, D.L.: Linkage analysis using biochemical variants in mice. II. Levulinate dehydratase and autosomal glucose 6 - phosphatase dehydrogenase. *Biochem.Gen.* 3, 517 ( 1969 )
- 19) Jacob, F., J. Monod: Mecanismes biochemiques et genetiques de la régulation dans la cellule bacterienne. *Bull. Soc. Clin. Biol.* 46, 1499 ( 1964 )
- 20) Kappas, A., Bradlow, H.L., P.N. Gilette, T.F. Gallagher: Studies in porphyria. I. A defect in the reductive transformation of natural steroid hormones in the hereditary liver disease, acute intermittent porphyria. *J. exp. Med.* 136, 1043 ( 1972 )
- 21) Kappas, A., S. Granick: Steroid induction of porphyrin synthesis in liver cell culture. II. The effects of heme, UDPGA and inhibitors of nucleic acid and protein synthesis on the induction process. *J. biol. Chem.* 243, 346 ( 1968 )
- 22) Mahood, W.H., J.H. Killough: Acute intermittent porphyria. A clinical and laboratory study of a large family. *Ann. int. Med.* 64, 259 ( 1966 )
- 23) Mauzerall, D., S. Granick: The occurrence and determination of delta-amino-levulinic acid and porphobilinogen in urine. *J. biol. Chem.* 219, 435 ( 1956 )
- 24) Meyer, U. A.: Intermittent acute porphyria. *Enzyme* 16, 334 ( 1973 )
- 25) Meyer, U.A., R. Schmid: Hereditary hepatic porphyrias. *Fed. Proc.* 32, 1649 ( 1973 )
- 26) Meyer, U.A., L.J. Strand, M. Doss, A.C. Rees, H.S. Marver: Intermittent acute porphyria. Demonstration of a genetic defect in porphobilinogen metabolism. *New. Engl. J. Med.* 286, 1277 ( 1972 )

- 27) Miyagi, K., R. Cardinal, J. Bossenmaier, C.J. Watson: The serum porphobilinogen and hepatic porphobilinogen deaminase in normal and porphyric individuals. *J. Lab. Clin. Med.* 78, 683 ( 1971 )
- 28) Nakao, K., O. Wada, T. Kitamura, K. Kono, G. Urata: Activity of amino-levulinic acid synthetase in normal and porphyric human livers. *Nature* 210, 838 ( 1966 )
- 29) Richards, F.F., J.J. Scott: Glycin metabolism on acute porphyria. *Clin. Sci.* 20, 387 ( 1961 )
- 30) Sassa, S., S. Granick, D. Bickers, R.D. Levere, A. Kappas: A simple assay method for uroporphyrinogen synthetase activity in  $\mu$ l samples of human blood and its application to the screening of the genetic defect of acute intermittent porphyria. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* ( 1973 )
- 31) Sassa, S., J.L. Granick, S. Granick, A. Kappas, R.D. Levere: Microassays for human erythrocyte delta-aminolevulinate dehydratase ( ALA-D ) and uroporphyrinogen synthetase ( URO-S ) and their applications to genetic studies. *Fed. Proc.* 32, 565 ( 1973 )
- 32) Sassa, S., S. Granick, D.R. Bickers, H.L. Bradlow, A. Kappas: A microassay for uroporphyrinogen I synthetase, one of three abnormal enzyme activities in acute intermittent porphyria, and its application to study of the genetics of this disease. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 732 ( 1974 )
- 33) Schaller, K.-H.: Aufgaben und Methoden der chemischen Analytik im arbeitsmedizinisch-toxikologischen Laboratorium. Kleinkonferenz der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Bonn-Bad Godesberg, Februar 1975

- 34) Schiele, R., K.-F. Druschky, K. - H. Schaller: Eine einfache fluorimetrische Methode zur Bestimmung der Uroporphyrinogen I-Synthetase in den Erythrozyten. Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Klinische Chemie, Freiburg, März 1975
- 35) Schiele, R., K.-H. Schaller, H.M. Wagner: Die Bestimmung der freien Erythrozytenporphyrine als schneller Suchtest für eine erhöhte Bleiexposition und seine Validität im Vergleich zum Blutbleispiegel und zur Delta-Aminolävulinsäure-Dehydratase-Aktivität. Schr.Reihe Ver.Wass.-Boden-Lufthyg., Berlin-Dahlem, H. 41, 231. Stuttgart 1974
- 36) Strand, L.J., B.F. Felsher, A.G. Redeker, H.S. Marver: Heme biosynthesis in intermittent acute porphyria. Decreased hepatic conversion of porphobilinogen to porphyrins and increased delta-aminolevulinic acid synthetase activity. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67, 1315 ( 1970 )
- 37) Strand, L.J., J. Manning, H.S. Marver: The induction of delta-aminolevulinic acid synthetase in cultured liver cells: the effects of end-product and inhibitors of heme synthesis. J. biol. Chem. 247, 2820 (1972)
- 38) Strand, L.J. U.A. Meyer, B.F. Felsher, A.C. Redeker, H.S. Marver: Decreased red cell uroporphyrinogen I synthetase activity in intermittent acute porphyria J. Clin. Invest. 51, 2530 ( 1972 )
- 39) Sweeney, V., M.A. Pathak, A.K. Asbury: Acute intermittent porphyria. Increased ALA-synthetase activity during an acute attack. Brain 93, 369 ( 1970 )

- 40) Taddeini, L., C.J. Watson: The clinical porphyrias. Sem. Hemat. 5, 335 ( 1968 )
- 41) Theile, U. : Daran denken - akute intermittierende Porphyrie. Dtsch. Ärztebl. 5, 291 ( 1971 )
- 42) Trux, F., K. Grossmann, I. Giegler: Die akute intermittierende Porphyrie ( eigene Beobachtungen in einer Familie ). Z. Ä rztl. Fortbild. 65, 185 ( 1971 )
- 43) Tschudy, D.P., M.G. Perloth, H.S. Marver, A. Collins, G. Hunter, Jr., M. Recheigl, Jr.: Acute intermittent porphyria: The first "overproduction disease" localized to a specific enzyme. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 53, 841 ( 1965 )
- 44) Valentin, H., K+H. Schaller: Die Aspekte der Präventivmedizin heute und morgen. Technicon Symposium, Frankfurt/Main 1974
- 45) Waldenström, J.: The porphyrias as inborn errors of metabolism. Amer. J. Med. 22, 758 ( 1957 )
- 46) Wichmann, T., K. Burchardt, K. Zernahle, G. Schwartz: Genetische Probleme der akuten intermittierenden Porphyrie. Z. ges. inn. Med. 28, 232 ( 1973 )
- 47) Wieck, H.H.: Lehrbuch der Psychiatrie, Schattauer, Stuttgart 1967
- 48) Wieck, H.H.: Neurologie und Psychiatrie in der Praxis. Notfälle - Sprechstunde. 2. verb. Auflage. Schattauer, Stuttgart - New York 1974
- 49) Wieck, H.H., K.-F. Druschky: Psychiatrische Aspekte des metabolischen Komas. Janssen, Düsseldorf 1975
- 50) With, T.K.: Acute intermittent porphyria: Family studies on the excretion of PBG and delta-ALA with ion exchange chromatography. Z. clin. Chem. clin. Biochem. 1, 134 ( 1963 )



## LEBENS LAUF

Am 29. 3. 1939 wurde ich als Sohn des damaligen Leiters des Baywa-Lagerhauses in Wiesau und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Eiber, in Wiesau/Opf. geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Wiesau trat ich in das dortige humanistische Gymnasium St. Peter und später in das humanistische Gymnasium Augustinus in Weiden ein, wo ich am 18. 7. 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Medizin nahm ich im Wintersemester 1957/58 an der Justus-Liebig-Universität in Würzburg auf. Im Oktober 1958 bestand ich die naturwissenschaftliche und im April 1960 die ärztliche Vorprüfung. Vom Wintersemester 1960/61 bis zum Sommersemester 1961 studierte ich an der Universität Innsbruck. Am 23. 8. 1963 schloß ich mein Studium an der Justus-Liebig-Universität Würzburg mit dem Staatsexamen ab.

Nach zweijähriger Tätigkeit als Medizinalassistent am Kreiskrankenhaus Erbendorf erhielt ich am 30. 9. 1965 die Approbation. Bis zu meiner Niederlassung als Arzt für Allgemeinmedizin in Neustadt/Waldnaab am 1. 1. 1969 arbeitete ich als Assistenzarzt am Kreiskrankenhaus Erbendorf.

Am 20. 8. 1963 schloß ich die Ehe mit Fräulein Gudrun Köhler.

Erlangen, 20. 3. 1975

*Heinrich Haumann*





